

939

ÜBER DAS  
MILCHSÄUREFERMENT  
UND SEIN VERHALTEN GEGEN  
ANTISEPTICA.



INAUGURAL-DISSERTATION  
ZUR ERLANGUNG DES GRADES  
EINES  
DOCTORS DER MEDICIN

VERFASST

UND MIT BEWILLIGUNG EINER HOCHVERORDNETEN MEDICINISCHEN FACULTÄT DER KAISERLICHEN UNIVERSITÄT ZU DORPAT ZUR ÖFFENTLICHEN VERTHEIDIGUNG BESTIMMT

VON

HERMANN MEYER,

RIG.

ORDENTLICHE OPPONENTEN:

Prof. Dr. B. Körber. — Prof. Dr. A. Vogel. — Prof. Dr. G. Dragendorff.

DORPAT.

DRUCK VON H. LAAKMANN'S BUCH- UND STEINDRUCKEREI.

1880.

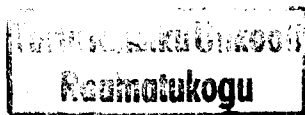
Tartu Riikliku Ülikooli  
Raamatukogu

74911

Gedruckt mit Genehmigung der medicinischen Facultät.  
Dorpat, den 11. October 1880.

Nr. 330.

Decan: Boehm.



441996

DEM ANDENKEN

DES WEILAND ÄLTESTEN DER GROSSEN GILDE

ZU RIGA

HANS PETER SCHWABE

GEWIDMET.

Indem ich die vorliegenden blätter der öffentlichkeit übergebe, sage ich meinem lehrer professor Dr. G. Dragendorff, unter dessen leitung diese arbeit entstand, für die hilfe in rath und that, die er mir dabei angedeihen liefs, meinen besten dank. Ebenso fühle ich mich herrn professor Dr. B. Brunner am technologischen institute hier selbst verpflichtet.

---

## EINLEITUNG.

Wenngleich die gährungserfcheinungen als erfahrungswissen schon seit alters bekannt sind, indem die weinbereitung, das säuern des brotes und der milch, sowie die fruchtgährungen ihrer nutzanwendung nach ins graue alterthum zu versetzen sind, so hat sich doch erst in verhältnißmäßig später zeit bei den naturforschern und gelehrten eine anschauung über diese vorgänge gebildet.

Plinius sah in der brotsäuerung schon etwas specifisches und sagte: «Palam est naturam (farinae) acore fermentari»; (Kopp. Geschichte der chemie) und wufste, daß die kälte die gährung verhindere; ein gewiß älterer erfahrungssatz.

In der folgezeit blieb nun der gegenstand unberührt, bis mit dem aufschwunge der chemie unter den alchymisten auch diese vorgänge berücksichtigung fanden, doch brauchten sie, alles generalisirend, die bezeichnung «fermentatio», deren ursprung von fervere = kochen, eine umsetzung der stoffe unter blasenaufwerfen, herstammt, promiscue für jede chemische wirkung. Diese ansichten vertraten die bedeutendsten chemiker des XIV. und XVI. jahrhunderts, wie Raimond Lull, Basilius Valentinus, Libavius u. a. doch wurden von dem letzteren schon die fäulniß und die fermentation

für verschiedene vorgänge erklärt, indem er noch eine aufbrauende umsetzung «digestio» unterschied, wesentliche unterscheidungsmerkmale waren aber noch nicht festgestellt, und selbst der stein des weissen sollte ein ferment sein.

Die iatrochemiker der späteren zeit trennten schon die thierischen fermente als specifische ab; und während Bafilus Valentinus die alkoholgährung, welche vorherrschend das interesse der forscher beanspruchte, als einen reinigungsproceß auffaßte, erkannte Van Helmont die ausscheidung der kohlenäure dabei und dachte sich das agens wie eine saat (imago fermenti impregnat massam semine), (Vierthaler. Fermentazioni. Bolletino della societa Adriatica di scienze naturali in Trieste. 1877.); doch liefs Van Helmont, zu weit gehend, alles durch fermente sich vollziehen, auch die entstehung eines thieres, wie er denn z. b. ein recept für herstellung von fröschchen und mäusen angab.

Aehnliche anschauungen finden sich auch bei Sylvius de la Boë, der die kohlenäureausscheidung durch säure von der bei der gährung unterschied, sowie bei Lemery und Becher, die nur den füssen körpern gährungsfähigkeit zusprachen, verbrennung und gährung jedoch für analog hielten und die fäulnis von ihr schieden; hierzu neigen auch die ansichten von Willis und Stahls zeitgenossen Boerhave, der die gährung nur vegetabilischen stoffen, die fäulnis nur den thierischen substanzen zusprach.

Zu anfang des XVIII. jahrhunderts bildete der schöpfer der phlogistischen theorie Stahl eine für lange zeit herrschende theorie der gährungs- und fäulnisercheinungen aus, indem er für diese vorgänge folgende erklärung gab: «Ein körper, der in faulung begriffen ist, bringet bei einem anderen, von faulung annoch befreiten, sehr leichtlich die verderbung zu wege; ja es kann ein solcher, bereits in

«innerer bewegung begriffener körper einen anderen annoch «ruhigen, jedoch zu einer sothanen bewegung geneigten, sehr «leicht in eine solche innere bewegung hinreissen.» (Dr. A. Mayer. Lehrbuch der gährungschemie. 1874).

Neben dieser wenig präcisen anschauung bestand aber schon eine eintheilung in geistige, faulige und saure gährung, und hat dieser theil, wie die ganze wissenschaft der chemie dem grofsen reformator derselben Lavoisier eine wichtige entdeckung zu verdanken, indem er zuerst die spaltproducte des zuckers bei der alkoholgährung feststellte, wenn auch die zahlen, die er angab, der wirklichkeit nicht ganz entsprechen.

Während so der chemische theil dieser frage seiner lösung entgegengeführt wurde, sollte auch die physiologische seite derselben weitere aufklärung erhalten, denn schon 1680 hatte Leuwenhoeck die bierhefe entdeckt und sie als aus ovalen, kugeligen körnchen zusammengesetzt beschrieben. Trotzdem nahm Macquer in seinem dictionaire de chimie 1778 noch ein organisches ferment für die alkoholgährung an, und bald nach ihm erklärte Fabroni in seiner schrift sull' arte dil fare de vino, die hefe sei eine dem kleber identische substanz. Auch er fand jedoch zu anfang dieses jahrhunderts durch Gay-Lyffac, Pelouze und Brande die wiederlegung seiner ansicht, indem der erstere den directen zerfall des zuckers in 51,34 theile  $C_2 H_6 O$  und 48,66 theile  $CO_2$  nachwies. Aber erst nachdem 1835 Cagniard de La tour (Annales de chimie et de physique t. 68) und unabhängig von ihm Schwann (Poggendorff's annalen der physik und chemie. 1837.) die hefe als nothwendige bedingung für die gährung hingestellt hatten und in Turpin und Kützing, cf. A. Mayer. l. c. unterstützung ihrer ansicht gefunden, indem sie nachwiesen, dafs geglühte luft keine gährung veranlasse, wurde die alkohol-

bildung als ein process, der aus physiologischen vorgängen in niederen organismen resultire, betrachtet; doch blieb es noch unentschieden, ob diese organismen thierischer oder pflanzlicher natur seien. Hieran anknüpfend beschäftigte sich nun die controverse mit erledigung der frage, ob eine contactwirkung oder fermentbildung seitens der «saccharomyces», eine bezeichnung, die Schwann für diese organismen gewählt, die spaltung des zuckers herbeiführe: Liebig stellte seine atomistische theorie der alkoholgährung auf und behauptete, die hefe wirke nur als in zersetzung begriffener körper, Berthelot und Mitscherlich vertraten die theorie mechanischer contactwirkung, während Berzelius der hefe eine katalytische kraft beimaafs.

Während so gerade die hefegährung das ganze interesse der forscher für sich gewonnen, war es erklärlich, daß der große entdeckter auf dem gebiete der gährungs- und fermenterscheinungen, Pasteur sich speciell dieser erscheinung zuwandte, im anschlusse daran jedoch auch andere fermenten, so das der milchsäure in den kreis seiner forschungen zog.

Dieser verdienstvolle arbeiter, von dem Tyndall sagen konnte: «Wenn man alle seine leistungen zusammenfaßt, kann man ohne übertreibung aussprechen, daß der werth seiner arbeiten bei weitem die kriegsentschädigung übertrifft, welche Frankreich an Deutschland gezahlt hat.» ging an die aufklärung der räthselhaften gährungs- und fäulnisvorgänge mit einer exactheit und mit einem von stetem zweifel begleiteten forschereifer, dem es gelingen mußte, in nicht zu verdunkelnder weise licht über diejenigen erscheinungen zu verbreiten, wo sich der stoff über die grundgesetze chemischer aequivalenz und affinität hinwegsetzt, und wo sich dem auge selbst bei der stärksten gläserarmatur nur puncte



und feine linienformen zeigen, und einer näheren erforschung ihrer wesenheit daher unübersteigbare grenzen bieten.

Nur unter beobachtung der strengsten sceptis, die alle cautelen gegen täuschungen sich zu verschaffen wufste, gelang es ihm aus dem streite mit den anhängern der abiogenesis Bastian, Huizinga u. a. als sieger hervorzugehen und in der academie der wissenschaften zu Paris gegen Bechamp, Pouchet, Boutron und deren anhänger seine theorie der gährungs- und fäulnißerscheinungen aufrecht zu erhalten, sowie die gegnerischen anschauungen anderer forschers, wie Liebig und Berzelius zu widerlegen. Durch classische arbeiten auf dem ganzen gebiete der durch organismen bedingten zersetzungerscheinungen, (*Annales de chimie et de physique* 1857—1860 und 1862 III. serie und in den *comptes rendus* 1863, 1864, 1871) war die basis geschaffen, von der alle späteren unterfuchungen ihren stützpunkt nehmen müssen.

Seitdem schon durch Ehrenberg (Beiträge zur kenntnis der organisation der infusorien et cetr. Abhandlung der königl. acad. zu Berlin. 1830.) die kleinen organismen, welche als infusorien, vibrionen, bacterien und schizomyceten später bekannt wurden, entdeckt worden, haben sich die forschers lebhaft mit deren morphologie und physiologie beschäftigt, eine menge von namen und arten geschaffen und in der frage, wie weit diese mikroskopischen gebilde an den ferment- und fäulnißvorgängen theilhaftig seien, so viele gegen-theilige anschauungen geliefert, daß es schwierig ist, das sicher beobachtete und reine experiment von den subjectiven ansichten und fehlerhaften versuchen zu trennen. Es ist das zum theil die schuld der stiefmütterlichen behandlung dieses capitels seitens der botaniker; hielten doch Ehrenberg l. c. und Dujardin (*Hist. nat. des zoophytes, infusions et cetr.* Paris. 1841) die schizomyceten für thiere, und gleicher

ansicht war auch Perty, wenngleich er ihnen nebenbei einen wechselzustand pflanzlicher natur zuschrieb. Pasteur selbst war auch darüber im zweifel und sprach von «germes des ferments végétaux» (Mémoires sur les corpuscules organisés, qui existent dans l'atmosphère et cetr. Annales de chimie et de physique III. serie. 1862. T. LXIV. pag. 57. anmerkung.)

Nägeli hatte noch 1859 im amtlichen berichte über die dreiunddreissigste deutsche naturforscherversammlung zu Bonn keine sichere entscheidung treffen können, ob die von ihm als «schizomycetes» bezeichneten formen von bacterium, vibrio, spirillum et cetr. sicher dem pflanzenreiche zuzurechnen seien; und De Bary (Morphologie und physiologie der pilze und myxomyceten. 1866.) schloß die bacterien aus dem bereiche der pilze aus und wollte sie den oscillarien zugezählt wissen, Cohn (Beiträge zur biologie der pflanzen. Heft III.) in seinen werthvollen arbeiten über diesen gegenstand trat jedoch in demselben jahre für die pflanzliche natur derselben ein, und Nägeli stellte sie dann in seiner neueren arbeit (Die niederen pilze in ihren beziehungen zu den infectionskrankheiten und der gesundheitspflege. 1877) sicher unter die pflanzen, womit die systematik endlich ein stadium erreicht hatte, von dem aus die forschungen sicherer weiter geführt werden konnten und durch Billroth u. a. wesentliche bereicherungen erfahren haben.

Nachdem für die fäulniserrscheinungen die nothwendigkeit der anwesenheit von bacterien nachgewiesen worden, was namentlich Pasteur l. c. in so überzeugender weise gelungen war, und darauf von medicinischer seite und im interesse der hygieine der einfluß der antiseptica auf das leben der schizomyceten durch viele experimente von den verschiedensten forschern studirt worden, haben auch in Dorpat diesbezügliche untersuchungen statt gefunden, und ist die morphologie und

physiologie der bacterien gegenstand einer reihe von doctor-differtationen geworden. So wären zu erwähnen W. Bucholtz. (Ueber die einwirkung der phenylsäure (carbolsäure) auf einige gährungsproceffe. Inaugural-differtation. Dorpat. 1866) nach ihm L. Bucholtz. (Ueber das verhalten von bacterien zu einigen antiseptics. Inaugural-differtation. Dorpat. 1876), Th. Haberkorn. (Das verhalten von harnbacterien gegen einige antiseptica. Inaugural-differtation. Dorpat. 1879.) Kühn. (Ein beitrage zur biologie der bacterien. Inaugural-differtation. Dorpat. 1879.) Wie die letztgenannten drei schriften gingen ferner unter leitung des professor Dragendorff aus dem pharmaceutischen institut zu Dorpat ähnliche themata behandelnde arbeiten hervor, so von Werncke. (Ueber die wirkung einiger antiseptica und verwandter stoffe auf hefe. Inaugural-differtation. Dorpat. 1879.) Wernitz. (Ueber die wirkung der antiseptica auf ungeformte fermente. Inaugural-differtation. Dorpat. 1880.), ferner Böhlendorff (Ein beitrage zur biologie einiger schizomyceten. Inaugural-differtation. Dorpat. 1880.) Wencikewicz. (Das verhalten des schimmelgenus mucor zu antiseptics. Dorpat. 1880. Inaugural-differtation.), endlich Nicolai Jalan de la Croix. (Das verhalten der bacterien des fleischwassers gegen einige antiseptica. Inaugural-differtation. Dorpat. 1880.) In nächster zeit sieht noch eine arbeit von N. Schwartz als erweiterung der versuche von L. Bucholtz ihrer veröffentlichung entgegen, indem in ihr der einfluß einiger substanzen, die als medicamente gegen infectionskrankheiten angewendet werden, auf tabaksinfusbacterien dargelegt werden soll.

Die vorliegende schrift hat nun im anschlusse an die obigen arbeiten zum zwecke, einen weiteren beitrage auf diesem gebiete zu liefern, und sollen in ihr resultate nieder-

gelegt werden, die sich bei der unterfuchung der bacterien in der milch und ihres verhaltens einigen antiseptics gegenüber ergaben. Daran würde sich die frage knüpfen, ob das in der milch enthaltene ferment, welches die überführung des milchzuckers in milchsäure bedingt, organisirt oder nicht organisirt sei. Gay-Lussac und Pelouze. (Annales de pharmacie. 1833. pag. 41.), waren die ersten, welche die milchsäurebildung für einen gährungsprocess erklärten, ohne sich jedoch darüber auszusprechen, worin die ursachen für dieselbe zu suchen seien; 1846 schrieb Blondeau dem penicillium glaucum die fermentwirkung zu. (Dr. C. Harz. Ueber die vorgänge bei der alkohol- und milchsäuregährung. Flora. 1871 Nr. 5—9). Einer genaueren unterfuchung wurden aber die milchgerinnung und die dabei mitwirkenden factoren erst von Pasteur unterzogen (Annales de chimie et de physique. III. serie. 1862. pag. 58. ff.), indem er die in geronnener milch sich findenden und von ihm für das milchferment gehaltenen bacterien beschrieb und die für ihn beweiskräftigen versuche angab: Glasballons, die mit frischer milch gefüllt waren, welche darauf zwei minuten gekocht und zugefchmolzen worden, zeigten erst am siebenten tage, nachdem sie einer constanten temperatur von  $25^{\circ}$ — $30^{\circ}$  C. ausgesetzt gewesen, gerinnung ihres inhaltes, ohne dafs sich eine gasentwicklung bemerken liefs. Die molke fand er so alkalisch wie die milch, unter dem mikroskop sah er viele vibrionen derselben art, aber von verschiedener länge mit langfamer bewegung und sich biegend, kein bacterium termo; die gröfse dieser vibrionen betrug 0,05 mm. bis 0,004 mm., die analyse der luft im ballon ergab O 0,8. CO<sub>2</sub> 17,2. H 0,2. N 81,8, woraus er schlofs, dafs die vibrionen sauerstoff verbraucht und kohlenfäure producirt hatten. War gerinnung eingetreten, so fand er die milch alkalisch, unter dem mi-

mikroskop sah er dann *Vibrio lineola*, die er auf der tafel II, fig. 24. l. c. abgebildet hat; auch *Bacterium termo* war darunter. Torulaceen und Mucedineen sah er nie.

Er glaubte nun, daß bei der milchgerinnung unter solchen umständen ein analoger proceß sich vollziehen müsse, wie bei der gerinnung derselben durch lab, also auch bei einer alkalischen reaction; neben dieser art der gerinnung spielt sich nach seiner ansicht eine andere unter luftzutritt ab, indem sich dabei unter dem einflusse eines «ferment végétal», dessen mortalitätstemperatur zwischen  $100^{\circ}$  und  $110^{\circ}$  C. schwankt, aus dem milchzucker milchsäure bildete.

Um nun den beweis zu liefern, daß die keime für das milchsäureferment aus der luft stammten, ließ er milch, die in einem glasballon auf  $108^{\circ}$  C. erhitzt und darauf eingeschmolzen war, zwei monate stehen, ohne daß sich gerinnung zeigte, nachdem der ballon geöffnet und damit der luft zutritt gestattet worden, wurde er wieder zugefchmolzen. Nach einigen tagen war gasentwicklung eingetreten, die milch reagirte alkalisch und war noch flüssig, roch aber unangenehm und gerann auf dem dampfbade mit abscheidung einer opaquen molke mit alkalischer reaction. Unter dem mikroskop fanden sich zwischen den milchkugeln eine menge kleiner glieder, die häufig in der mitte eingeeengt waren und die verlängerte form von *Bacterium termo* darstellten, zwischen diesen fanden sich kleinere, *Vibrio lineola*; bewegung ließ sich an keinem der organismen beobachten.

Neben diesen bacterienarten sah er glieder von fast doppeltem durchmesser der zuvor erwähnten, welche dadurch characterisirt waren, daß sie an dem einen ende eine art von sphärischem kopf (spora) trugen, ihre zahl war der von bacterien und vibrionen gleich und es zeigten sich ebenfalls keine sichtbaren bewegungen. Die luftanalyse ergab O 2,3.

CO<sub>2</sub> 28,6. H 11,0. N. 58,1. Neben dieser alkalischen gerinnungsart der milch sah er auch eine faure gährung sich vollziehen und giebt im allgemeinen an, daß die milch in feinen glasballons im verlaufe von drei bis zehn tagen sauer wurde; ein mal trat dieses erst nach einem monat ein. In einer anderen arbeit, (Etudes sur les vins. Comptes rendus. 1864. pag. 149.) beschreibt er wieder das «ferment de la fermentation lactique» und giebt eine abbildung desselben, die jedoch nicht der in den annales de chimie et de physique entspricht: Er sagt, es seien hier ohne widerrede dem mycoderma aceti sehr ähnliche glieder, die in der mitte eingengt sind, ein bemerkenswerther unterschied fände sich aber in der länge und in der unregelmäßigkeit der mittleren einschnürung beim milchferment, was auch aus der zeichnung auf der beigegebenen tafel l. c. ersichtlich ist.

Nachdem Pasteur mit diesen untersuchungen die aufmerksamkeit auf den gegenstand gelenkt, denn einen abschluß hatte er für die frage in sofern nicht gefunden, als er für die milchsäurebildung, die ja bei der spontangerinnung der milch in wirkung tritt, keine besondere species der schizomyceten nachgewiesen hatte, der die specifische eigenschaft die beregte gährung zu erzeugen vindicirt werden könnte, ist in der folge nur wenig zur klärung des vorganges beigetragen worden.

Eine flüchtige berührung fand die sache später durch H. Hoffmann. (Ueber bacterien. Botanische zeitung von H. v. Mohl und A. de Bary. 1869. Nr. 20). Derselbe beobachtete, daß milch, in die fleischwasserbacterien transplantirt waren, früher gerinnung aufwies, als die reine, und daß die bacterien im ersten falle von der kleinsten form und unbeweglich seien, in spontan sauer gewordener milch sah er bewegliche nur im beginn der säuerung, in ganz frischer

milch fanden sich keine. Es gelang ihm, milch, die in zugegeschmolzenen gläseröhren eine bis drei stunden in siedendem wasser gehalten worden, fünfzehn monate flüssig und frei von säure zu bewahren, schwach saure milch zeigte sich noch nach vier jahren unter den genannten umständen flüssig, und nur ein ganz geringer theil des caseins war herausgefällt.

Um die ansichten Pasteur's zu stützen, denen er sich anschloß, machte er versuche mit honigwasser, in welchem unter bacterienentwicklung ohne pilzbildung milchsäure gebildet wurde; unter dem mikroskop zeigten sich schizomyceten der verschiedensten art, unter denen die kugel- und kettenformen ihm für monas crepusculum galten. Entscheidend waren diese resultate aber auch nicht, da nur die anwesenheit der bacterien in geronnener milch nachgewiesen war, ihre artbestimmung fehlte und die unrichtige beobachtung vorliegt, daß frische milch keine bacterien enthalte, wovon ich das gegentheil beweisen konnte. Eingehender und auch die morphologie sowie genese der bacterien in der milch berücksichtigend ist die arbeit von Dr. C. O. Harz. (Ueber die vorgänge bei der alkohol- und milchsäuregährung. Flora. 1871. Nr. 5—9): Pag. 132 u. ff. sagt er, daß lange bevor die milch in den gallertartigen zustand getreten ist bei ihrem fauerwerden micrococcus, bacterium und vibrionenformen zu finden seien, «welche ohne zweifel aus den überall «in der athmosphäre enthaltenen und nun in die milch gelangten schimmel- und hefekeimen entstanden sind, es sind «die von Pasteur «milchsäureferment» bezeichneten gewöhnlichen fermentformen der milchsäuregährung.» Die keime können durch aufkochen getödtet werden, wie schon Gay-Lussac zeigte, der durch täglich wiederholtes aufkochen im sommer die milch monate lang flüssig erhielt, wobei er sich jedoch den fauerstoff, der dadurch ausgetrieben wurde,

als gährungserreger dachte. Nach Harz assimiliren nun die keime aus der luft sowohl das cafein als den milchzucker und geben an stelle des letzteren milchsäure ab. «Die so «gebildete milchsäure entzieht dem an natron gebundenen «und dadurch gelösten cafein das natron, und es wird in «folge dessen (höchst fein zertheilt) in form einer gallertmasse «abgeschieden, welcher proceß so lange vor sich geht, als «überhaupt milchzucker noch zugegen ist.»

Ferner fand er, daß die durch lab gewonnene fülle molke an der luft unter bacterien- und pilzgonidienbildung fauer werde. Wurde die faure molke durch kohlenfaures natron abgestumpft, so bildete sich eine pilzschicht an der oberfläche der flüssigkeit, die Harz aus den zerfallenen bacterien entstehen läßt und als «milchoberhefe» betrachtet, indem er sie mit der gliederhefe Halliers «arthrococcus» identificirt. Von dieser mycelartigen hefeform sollen nun hyphen von walzenförmiger gestalt, (oidium lactis. Fresenius) auswachsen, die gleichfalls milchsäure zu bilden vermögen, wozu er noch die beobachtung Karstens (Chemismus der pflanzenzelle. 1869) hinzuzieht, wonach sich in der membran dieser von Fresenius oidium lactis benannten ascococcen, die von Karsten auf metallischem eisen cultivirt waren, milchsäure nachweisen liefs.

Auch aus bierhefe, die in milchzuckerlösung zerfiel und ihre inhaltzellen entliefs, sah er unter dem mikroskop mikrococcen sich entwickeln, und es wurde milchsäure gebildet; weiter entstand dieselbe auch in einer rohrzuckerlösung 1,8 zu 100 wasser, die mit zwei tropfen reiner milchsäure und etwas bierhefe versetzt war, nachdem anorganische salze mit weinsaurem ammoniak und schlemmkreide hinzuge-  
than waren.



So interessant die unterfuchungen von Harz auch find, fo finden ſich doch nicht die genügenden garantieren dafür, daß er reinculturen verwandte, indem ſich zwifchen den hefezellen bacterienkeime befinden konnten, die ſich auf koſten der hefeleichen entwickelten, wie anderſeits auch die von ihm benutzten gefäße und flüffigkeiten nicht ſteriliſirt waren. Während der erſte theil ſeiner beobachtungen mit bezug auf die ſchon von Paſteur beſchriebenen coccen und bacterien in der folge ſeine beſtätigung finden ſoll, kann ich den von ihm docirten polymorphismus nicht zugeben, und ſah in den vielen präparaten aus den verſchiedenſten ſtadien der milchzerſetzung nie die von ihm geſchilderte «oberhefe» entſtehen, auch hätte ihn der umſtand, daß bei luſtabſchluß in ſeinen culturen keine ascococcenentwicklung eintrat, darauf bringen können, die keime für dieſe oidiumform in der luſt zu ſuchen.

Billroth (Unterſuchungen über die vegetationsformen der coccobacteria septica. Berlin. 1874. pag. 73.) hat ebenfalls die bacterien der milch unterſucht, hält ſie aber nicht für die urheber der gährung; der beſchreibung, welche er von denſelben giebt, kann ich mich durchaus anſchließen, nur iſt es mir nie gelungen trotz der zahlreichen mikroſko- piſchen beobachtungen, die ich gemacht habe, eine theilung der doppelcoccen zu ſehn, wie Billroth ſolche erkannt haben will.

Nach ihm hat dann Liſter (The pharmaceutical journal and tranſaction. 1877. pag. 285 u. ff.) das milchferment unterſucht und erklärte es für ein organiſirtes, was er dadurch zu beweifen glaubte, daß er die bacterien in einem tropfen ſaurer molke zählte und denſelben dann ſo verdünnte, daß die wahrſcheinlichkeit ſich ergab, es enthalte ein tropfen der ſo erzielten miſchung je ein bacterium. Er ſtellte nun

drei versuchsreihen auf: In der ersten befanden sich fünf proben gekochter milch mit einem tropfen der flüssigkeit und diese wurden offen stehen gelassen, mit einer zweiten reihe verfuhr er ebenso, aber bedeckte die gläser, in der dritten reihe enthielt jedes glas milch einen tropfen muthmaßlich zwei bacterien enthaltender flüssigkeit; die spätere untersuchung ergab dann, dafs aus der zweiten reihe drei proben flüssig geblieben waren, die übrigen proben waren geronnen und enthielten bacterien, während die flüssig gebliebene milch frei von solchen war.

Hallier (Gährungsercheinungen. Leipzig. 1867. pag. 25 u. ff.) liefs die milchgährung ebenfalls nur von mikroskopischen organismen abhängig sein und sollten dieselben von penicillium stammen. Auch die gerinnung der milch durch lab wollte er auf die in der magenflüssigkeit massenhaft vorkommenden hefegebilde zurückführen. Die keime für das ferment bei der spontangerinnung der milch sind seiner ansicht nach schon in der brustdrüse des thieres enthalten, was ich auch nachweisen konnte; dafs aber die milchbacterien von penicillium abstammen, habe ich nicht bestätigen können; wie ja auch in seinen experimenten bacterienkeime nicht nothwendig ausgeschlossen sind und die reincultur nicht genügend garantirt wird.

Hoppe-Seyler scheint sich auch für ein organisirtes milchferment zu entscheiden, wenn er in seiner allgemeinen biologie, Berlin. 1877, pag. 120 sagt, die spaltung des milchzuckers geschehe durch ein ferment, welches in der milch enthalten sei und sich in niederen organismen wahrscheinlich sehr verbreitet finde. Nach ihm schliesst sich dieser process den fäulnisvorgängen an.

Endlich hat Böhlendorff l. c. pag. 20 u. ff. die bacterienentwicklung in der milch untersucht und ist zu gleichen

resultaten gelangt wie Hoffmann, Billroth und Pasteur, doch nimmt er neben der mitwirkung der bacterien eine milchgerinnung durch ein chemisches ferment an, worauf ich im laufe meiner arbeit noch mehrmals zurückkommen werde.

Pag. 23 fagt Böhlendorff: «Ein sehr einfaches factum, warum man die gerinnung der milch den bacterien allein nicht zuschreiben kann, möchte ich hier noch erwähnen. Erwärmt man nämlich säuerliche milch, die aber noch nicht geschieden, auf etwa  $60^{\circ}$  C., so scheidet sich sofort das casein ab, in folge der rascheren entwicklung der milch-säure, was bacterien, da sie bei dieser temperatur schon nicht mehr entwicklungsfähig sind, zumal in einigen minuten, doch unmöglich bewirken können.» Diefer erklärang kann ich nicht beistimmen, die fällung des caseins war durch die schon entwickelte säure bedingt, wovon man sich überzeugen kann, wenn man ganz frische milch mit essigsäure vorsichtig ansäuert. Man kann dabei einen punct erreichen, wo die milch noch flüßig ist, erwärmt man sie, so fällt das casein heraus.

Nachdem von L. Bucholtz, l. c. Kühn, l. c. und Schwartz (Sitzungsberichte der Dorpater naturforschergesellschaft 1879, Nr. 32) die bacterien verschiedener nährflüssigkeiten auf ihr verhalten den antiseptics gegenüber geprüft worden, mußte es von interesse sein zu erfahren, wie die schizomyceten der milch sich unter solchen einflüssen zeigen und ob sie identisch mit denen aus eiweiß-, mutterkorn- oder anderen nährflüssigkeiten sind, wobei sich noch wichtige vergleiche mit den ergebnissen anstellen ließen, die Wernitz aus seinen versuchen mit antiseptics gegen ungeformte fermente gewonnen hat.

Hieran würde sich dann leicht die frage knüpfen, ob die schizomyceten in der milch alleinige und directe ursache der milchsäurebildung seien, oder ob ein chemisches, etwa

von den bacillen abgeschiedenes ferment hier zur wirksamkeit gelange, oder ob endlich dieser process durch ein nicht organisirtes ferment bedingt werde, wie solches die ansicht Kühn's (Physiologische chemie pag. 571) und Al. Schmidt's ist, (Ein beitrage zur kenntniß der milch, Dorpat 1874, pag. 13.). Letzterer vertritt die Ansicht, es sei bei der spontanen milchsäurebildung von den Pasteurschen organismen abzusehen, und dieselbe vollziehe sich unter dem einflusse eines von ihm aus der milch dargestellten und in der milch praexistirenden chemischen fermentes.

---

## VERSUCHSMETHODE.

Wenn man frische milch frei an der luft stehen läßt, so lehrt die erfahrung, daß dieselbe bei einer temperatur von  $15^{\circ}$  bis  $20^{\circ}$  C. innerhalb vierundzwanzig stunden fauer wird und das casein sich als coagulum ausscheidet, was am raschesten bei  $35^{\circ}$  C. geschieht.

Läßt man die molke von der geronnenen milch durch ein tuch abfließen, indem man die ersten milchig getrübten flüssigkeitsmengen noch ein mal durch daselbe gehen läßt, so erhält man eine gelbliche, opaque fäuerlich schmeckende flüssigkeit mit dem eigenthümlichen molkegeruch. In einem tropfen derselben sieht man unter dem mikroskop (Hartnack objectiv 7, ocular 3 bei ausgezogenem tubus,) neben milchkugeln kleine durchscheinende gebilde von rundlicher gestalt, die eine langsame locomotion und contourveränderung zeigen, vielleicht nur molecularbewegung, von den milchkugeln aber durch eine andere lichtbrechung verschieden sind. Neben diesen in geringer zahl und vereinzelt auftretenden kugligen zellen, an denen jedoch keine kerne zu beobachten waren, fanden sich in überwiegender zahl längliche in der mitte mit einer einschnürung versehenen zellen, ebenfalls ohne sichtbaren kern, die sich wie zwei aneinander gehetzte ovoide ausnahmen und die doppelte oder dreifache größe

der eben besprochenen einzelzellen hatten, indem sie 0,003 mm. bis 0,004 mm. maßen. Diese diplococcen (Billroth) zeigen eine sehr lebhafte windmühlenflügelartige bewegung um die einschnürungsstelle als angelpunct (Brownian movement) Vierthaler (Fermentazioni l. c.); oft ruht eine solche doppelzelle mehrere secunden bewegungslos an der oberfläche des objecttropfens, taucht dann plötzlich in die tiefe, oder kreift in bogenlinien über das gefichtsfeld, wobei der plötzliche übergang in den zustand der ruhe oder bewegung, welche zuweilen so rasch ist, daß man den fraglichen körper erst beim stillstehen diagnosticiren kann, bemerkenswerth erscheint. Bei den bacterien im fleischwasser und tabaksinfuse beobachtete ich solche bewegungen nicht. Während die längsaxe dieser doppelovoidzellen gewöhnlich in einer geraden linie liegt, habe ich zuweilen auch eine winklige knickung um den einschnürungspunct gesehen; daß die doppelzellen sich trennten, habe ich aber nicht beobachten können. Diese eben beschriebene schizomycetenform war zum beginne der milchsäuerung und in frischer molke die überwiegende; zuweilen wimmelte das ganze gefichtsfeld von diesen kleinen wesen, indem sie sich entweder vom rande eines gliahaufens umhertummelten, oder, gleichmäsig in der flüssigkeit vertheilt, sich in den bewegungen hinderten und dann pendelbewegungen machten, oder auf einem fleck sich um den einschnürungspunct drehten.

Schon am sechsten oder siebenden tage, nicht erst nach vierzehn tagen, wie Böhlendorff l. c. pag. 22 angiebt, ließen sich in der sauren milch fadenbacterien in schlängelnder bewegung blicken, die an zahl zunahmen, je mehr die milchsäurebildung sich ihrem ende näherte; die diplococcen verschwanden, und mit dem eintritt der käsigten fäulnis der milch dominirten die fadenbacterien und verschiedensten

mycelarten, die das schlussstadium bildeten, so auch in dieser kleinen welt ein bild des kampfes ums dasein darstellend.

Neben den die milchsäuregährung gleichsam als leitpflanze begleitenden diplococcen fand sich noch eine toruliform (Cohn) der schizomyceten, reihen von kugelnzellen zuweilen mit verdicktem endgliede, wie sie auch Pasteur schildert, schlängelten sich in trägen bewegungen dahin und zeigten sich unter Hartnack objectiv II wie von zwei parallelen linien eingefäumt, was man wohl als ausdruck für eine schlauchförmige umhüllung nehmen konnte.

Meine versuche mit vergifteter molke stellte ich in der weise an, daß von kuhmilch, die bei einer temperatur von  $18^{\circ}$  bis  $25^{\circ}$  C. in etwa 36 stunden spontan coagulirt war, die molke getrennt wurde, indem nach entfernung der dicken rahmschicht die geronnene milch durch ein tuch gelassen wurde. Das so gewonnene grüngelbe serum wurde dann mikroskopisch untersucht und nur dann benutzt, wenn sich neben den charakteristischen diplococcen nicht viele andere schizomyceten und mycelien fanden.

Um die wirkfamkeit solcher molke, nachdem sie dem einflusse eines antisepticums ausgesetzt gewesen, zu prüfen, wurden etwa 50 cc. haltende ricinusgläser, die zuvor mit aqua destillata sorgfältig gereinigt, getrocknet und durch einen carbolwattepfropf verschlossen waren, eine halbe stunde lang in einer metallkammer auf  $110^{\circ}$  bis  $180^{\circ}$  C. erhitzt, um sie keimfrei zu machen. Die kuhmilch, (deren wassergehalt durchschnittlich 90 % betrug, also wenig mehr als normale kuhmilch nach J. König (Nahrungs- und genussmittel. Berlin 1879.) der 87 % angiebt), und auf welche die vergiftete molke wirken sollte, stammte aus der meierei Rathshof bei Dorpat.

Dieselbe mußte nun zunächst sterilisirt werden, in bezug worauf die angaben für die siededauer und temperaturhöhe bei den autoren bedeutend variiren. Während Pasteur  $110^{\circ}\text{C}$ . verlangte, wollte Schröder (Cohn l. c. pag. 250.)  $130^{\circ}\text{C}$ . gefunden haben, H. Hoffmann berichtete, daß milch, welche eine halbe stunde in siedendem wasser gestanden hatte, nicht fauer wurde und gekochte milch (ohne angabe der dauer) in zugeschmolzenen röhren zwei bis drei jahre flüßig blieb, während Dr. W. Roberts nach seinen am 3. März 1879 der royal society in London vorgelegten versuchen die milch erst durch 20 bis 40 minuten andauernde siedhitze zu sterilisiren vermochte. J. Tyndall (Abstract in nature 1877, Bd. 16, pag. 127) fand, daß discontinuirliches erhitzen die bacterien besser vernichte als eine permanente temperatur von  $140^{\circ}\text{F}$ .

Um weniger wasser durch verdampfen zu verlieren, wählte ich letzteres verfahren und brachte etwa 1000 cc. milch in einem verzinnten gefäß zum kochen, was mit einem starken aufschäumen begann, dann wurde die noch heiße milch gleich in einen entsprechenden glasballon gefüllt und derselbe mit einem gummipfropf verschlossen, der in seinen beiden öffnungen die armatur einer spritzflasche trug, deren langes rohr bis auf den boden des glasballons reichte. Nachdem die milch in diesem gefäß wieder zum kochen gebracht und eine viertelstunde darin erhalten worden, wurden mit ihr die sterilisirten ricinusgläser unter möglichst geringer lüpfung des watterverschlusses gefüllt, indem beim zudrücken eines gummischlauches, der sich am kürzeren glasrohre der spritzflaschenarmatur befand, der dampfdruck die siedende milch durch das längere rohr in die eprouvetten trieb, die bis zu einer marke für 30 cc. inhalt gefüllt wurden. Die temperatur im ballon schwankte zwischen  $108^{\circ}$  und  $112^{\circ}\text{C}$ .



Nach sofortigem verschlusse mit dem watterpfropf wurden die noch heißen gläser in ein parafinbad gestellt und daselbst 15 minuten auf  $100^{\circ}$  bis  $115^{\circ}$  C. erhalten. So behandelte milch gerann unter watterverschluß selbst nach sechs monaten nicht und behielt den gewöhnlichen geschmack gekochter milch. Da ferner nach den untersuchungen von Al. Schmidt die gekochte milch sich seinem ferment gegenüber ebenso verhielt wie ungekochte, so durfte ich gleiches der molke gegenüber voraussetzen, die in ihrer wirkung durch die angewandten antiseptica beeinflusst werden sollte und der einwirkung verschiedener quantitäten derselben zuvor mehrere stunden unterlag, und durch watterpfropfe vor dem hineinfallen neuer keime geschützt war. Die in aufsteigenden concentrationsgraden vom beabsichtigten minimum bis maximum des antisepticums vergifteten 5 respective 1 cc. molke wurden unter möglichst geringem öffnen des watterpfropfes zu der sterilisirten milch in die eprouvetten gegossen, und der versuchsreihe drei controllgläser beigegeben: Eines mit reiner sterilisirter milch, ein zweites mit einer gleichen quantität molke wie die vergiftete, ein drittes mit einem zusatze vom angewandten maximum des bezüglichen antisepticums, das entweder als solches oder in destillirtem wasser oder in alkohol von  $95^{\circ}$  gelöst zur verwendung kam. Die ganze versuchsreihe wurde nun in den brutofen gestellt, dessen temperatur  $35^{\circ}$  C. nicht überstieg und nicht unter  $30^{\circ}$  C. sank.

Alle vierundzwanzig stunden wurden die gläser auf ihren inhalt geprüft, ob derselbe schon geronnen oder noch flüssig sei, und erwies es sich ausnahmslos, daß das controllglas mit dem zusatze von reiner molke stets am tage darauf coagulirte milch enthielt, während die reine milch nie, und die nur mit dem antisepticum versetzte selten spuren von gerinnung aufwies. Nahm die Zahl der eprouvetten mit coagulirter milch

nicht mehr zu, so wurde das experiment abgeschlossen, indem der inhalt eines jeden glases mikroskopisch untersucht wurde.

Um wiederholungen zu vermeiden, sind in den folgenden protocollen nur die verhältniszahlen des minimums vom antisepticum zur molke, bei dem die gerinnung noch beeinflusst wurde und derjenige concentrationsgrad angegeben, bei dem sie aufgehoben ward, und wird mit der zahl 1 das gewichtsquantum des antiseptics bezeichnet, während die zweite verhältniszahl die molkemenge in cc. angiebt; bei flüssigkeiten, die rein zur verwendung kamen, sind die proportionen nur in volumen vermerkt. Die übersicht über die mikroskopischen untersuchungen findet sich, da sie ziemlich einheitliche waren, am ende der protocollreihe.

---

## VERSUCHSPROTOCOLLE.

### 1. Alkohol.

Da der alkohol zur lösung einiger antiseptica benutzt werden mußte, so war es angezeigt, zunächst seine wirkung auf die milchäuregährung zu prüfen, trotzdem er nach den versuchen von Werncke, Buchholtz, Wernitz und la Croix sowohl auf geformte als ungeformte fermente nur gering reagirt. Je ein cc. molke wurde in absteigender reihe von einer concentration von 1 : 100 bis zum verhältnisse von 5 : 1 mit alkohol vergiftet, und fand sich bei der unterfuchung, daß derselbe erst im verhältnisse von 2 : 1 die gerinnung aufhob, verzögert wurde sie bei gleichen theilen von molke und alkohol, er wirkte also auf das milchsäureferment weit schwächer als auf bacterien 1 : 50 respective 1 : 4,4 und ungeformte fermente 1 : 10 bis 1 : 2,8.

### 2. Chloroform.

Da Müntz (Comptes rendus. LXXX 1875, pag. 1250 u. ff.) das chloroform auf emulfin unwirksam fand, und darauf hin behauptete, es sei für die differentialdiagnose zwischen geformten und ungeformten fermenten zu verwerthen, hat Wernitz pag. 32. l. c. den versuch wiederholt und die

ansicht Müntz's bestätigen können; während jedoch Hoffmann l. c. fand, daß chloroformdämpfe die bacterien tödten, indem fleisch in einem glase, in welchem ein napf mit chloroform hing, der fäulnis, nicht unterlag, Werncke für hefe eine concentration von 1:200 laetal wirken sah, und la Croix 1:112 resp. 1:90 als tödliche dosis für fleischwasserbacterien constatirte, kam N. Schwartz (Sitzungsberichte der Dorpater naturforscher-gesellschaft 1878, pag. 64) zu entgegengesetzten resultaten, indem nach ihm chloroform auf tabaksinfusbacterien unwirksam war.

Zur anwendung kam reines chloroform, das sich in der molke in durchscheinenden tropfen zu boden setzte und durch häufiges schütteln in derselben fein vertheilt wurde, bald jedoch wieder sank. Auf die milchäuregährung wirkte es bei einer concentration von 1:10 verzögernd, vollständige fiftirung erreichte erst eine das molkequantum übersteigende menge.

### 3. Kreosot.

Da schon seit lange bekannt, daß kreosot conservirend auf organische substanzen wirke und L. Bucholtz ihm als fäulniswidriges mittel sogar den vorzug vor der carbolsäure gab, indem schon bei einer concentration von 1:1000 die von ihm gezüchteten bacterien getödtet wurden, während Werncke einer concentration von 1:500 zur hefevernichtung bedurfte, und im gegensatz zu dieser großen empfindlichkeit der geformten fermenten Wernitz fand, daß die ungeformten erst bei verdünnungen von 1:100 resp. 1:60, meistens aber erst durch einen überschuß von kreosot wirkungsunfähig wurden, mußten sich von einem versuche mit diesem antisepticum dem milchferment gegenüber interessante resultate erwarten lassen.

Zur verwendung kam buchenholztherkreosot in 5 procentiger alkohollösung, die bei einer concentration von 1 : 250 die molke milchig trübte, bei der von 1 : 100 eine verzögerung, bei 1 : 50 völlige fälsirung der coagulation durch die molke bewirkte.

#### 4. Carbolsäure.

Das allgemeine interesse, welches die Carbolsäure als antisepticum und universalmittel gegen fermentative proceßse für sich beansprucht hat, forderte auch gegner derselben heraus, so Neumann und Steiner, cf. Billroth l. c. pag. 211, denen sich Zapolsky unter der leitung von Hoppe-Seyler anschloß, indem er angab, daß die carbolsäure auf emulfin und andere organische fermente gar keine wirkung ausübe oder sie nur wenig beeinträchtige, was von Wernitz nicht bestätigt werden konnte, da nach ihm die emulfinwirkung beispielsweise bei einer concentration von 1 : 20 ausblieb.

W. Bucholtz (Ueber die einwirkung der phenylsäure (carbolsäure) auf einige gährungsproceßse. Inaugural-dissertation. Dorpat 1866) hat sich eingehend mit der antifermentativen eigenschaft der phenylsäure beschäftigt und fand l. c. pag. 37, daß ein verhältnis von carbolsäure 1 zu milch 600 in gewichtstheilen, wobei 1 cc. milch von ihm zu 1 grm. angenommen wurde, die gährung der milch nur unmerklich verlangsame; bei einer concentration von 1 : 265 wurde sie ganz aufgehoben und die milch blieb wochenlang flüssig. Pilze und sporen fand er nur bei den verdünnungen 1 : 1135,3 bis 1 : 603,6; bei einem verhältnisse von 1 : 372,6 bis 1 : 300 war die gerinnung um zwei tage verlangsam, trat aber dennoch ein, ohne daß sich «pilze und infusorien»

finden ließen, bei einem verhältniß von 1 : 265 fehlten pilzbildungen und die gerinnung blieb aus. Den versuch mit der concentration 1 : 300, auf den sich W. Bucholtz l. c. pag. 49 stützt, um die annahme eines ungeformten fermentes in der milch aufrecht zu erhalten, habe ich wiederholt, fand ihn aber nicht bestätigt, da zwar eine verzögerung der gerinnung statt fand aber bei watteverschluß auch bacterien in lebhafter bewegung in der molke umherschwammen. Seine beobachtungen mit bezug auf ungeformte fermente konnte jedoch auch Wernitz im gegensatze zu Lemaire (De l'acide phenique, de son action sur les végétaux et ectr. Paris. 1865.) bestätigen, ebenso konnte ihm Werncke beistimmen mit bezug auf hefe. L. Bucholtz fand seine bacterien durch eine concentration von 1 : 25, Kühn durch solche von 1 : 156 resp. 1 : 200 vernichtet, la Croix constatirte für fleischwasserbacterien die ziffern: 1 : 22 resp. 1 : 2,66, es zeigen sich somit große schwankungen in den zahlen, und nähern sich die von Wernitz 1 : 100 bis 1 : 20 denen für geformte fermente 1 : 156 bis 1 : 22 resp. 1 : 2,66. Die von mir untersuchten molken wurden mit einer 1 procentigen carbolsäurelösung in wasser vergiftet und so concentrationen von 1 : 10000 bis 1 : 100 hergestellt. Es trat verspätete gerinnung bei einer concentration von 1 : 700 ein, sie blieb aus bei einer verdünnung von 1 : 500. Diese auffällig energische wirkung der carbolsäure veranlaßte einen zweiten versuch, und dabei ergab sich die verzögerung erst bei einer concentration von 1 : 200, völlige fästirung der coagulation der milch bewirkte erst das verhältniß von 1 : 20, zahlen, die sich mehr denen von L. Bucholtz, Kühn und la Croix nähern.

Bei den concentrationen von 1 : 25 und mehr hatte sich in der molke ein weißer niederschlag gebildet.

## 5. Salicylsäure.

Kolbe und E. v. Meyer (Journal für praktische chemie. Neue folge, Bd. X, 1874.) prüften die wirkung der salicylsäure auf hefe und bacterien und fanden zugleich, daß 0,4 % dieses antiseptismus die gerinnung frischer milch um 36 Stunden verzögere; in demselben journal bd. 21 wies A. Schultz nach, daß die salicylsäure nur mit harnstoff und gelatine verbindungen eingehe, mit den anderen stickstoffverbindungen (albumin) dagegen nicht.

Nach L. Buchholtz wurden die von ihm gezüchteten bacterien in ihrer entwicklung gehemmt durch ein verhältniß von 1 : 932, aufgehoben ward dieselbe durch eine concentration von 1 : 362, und während Werncke bei 1 : 1000 die hefe ertödtet sah, fand Kühn für seine bacterien die zahlen 1 : 616 resp. 1 : 1000, la Croix gab für die verhinderung 1 : 1003 für aufhebung der entwicklung von fleischwasserbacterien die zahlen 1 : 343, 1 : 60, 1 : 3003, 1 : 603 und 1 : 1121 an, wobei für den vergleich mit den bacterien in der milch nur das verhältniß 1 : 60 für ertödtung schon entwickelter bacterien herangezogen werden kann. Für die ungeformten fermenten schwanken die zahlen auch bedeutend 1 : 7600 bis 1 : 166 (Wernitz). Mit einer 2,5 procentigen lösung von salicylsäure in alkohol wurden für den vorliegenden versuch mit molke concentrationen von 1 : 20000 bis 1 : 66,6 hergestellt.

Bei einer concentration von 1 : 400 trübte sich die molke milchig, bei der von 1 : 200 bildete sich schon ein weißer flockiger niederschlag, den ich auch mit berücksichtigung der unterfuchungen von A. Schultz doch für durch die salicylsäure gefälltes serumalbumin oder casein halten muß, da reiner alkohol selbst im verhältniße von 1 : 6 gekochte milch nicht gerinnen machte.

Bei der revision der epruvetten ergab sich, daß ein concentrationsminimum von 1:666,6 genügte, um die gerinnung zu verzögern, bei einem verhältniße von 1:200 ward sie ganz aufgehoben, zahlen die sich weder denen für geformte nach ungeformte fermente ganz anschließen. Zu bemerken ist hier noch, daß das controllglas mit dem zusatze des maximums der angewandten lösung flüssigen inhalt aufwies, während das glas mit dem maximum von antisepticum 0,075<sup>o</sup> salicylsäure auf 3 cc. alkohol in 5 cc. molke wohl gerinnung zeigte.

## 6. Sublimat.

Sublimat hatte sich als sehr energisches antisepticum sowohl gegen organisirte als nicht organisirte fermente erwiesen; so fand L. Bucholtz dasselbe auf die von ihm gezüchteten bacterien in concentration von 1:20000 tödtlich wirkend, nach Kühn genügte 1:25250, nach la Croix 1:25250 bis 1:1250, Wernke sah die hefe bei 1:42800 vernichtet, die ungeformten bei Wernitz erlagen verdünnungen von 1:65000 bis 1:720, und lag es daher nahe seine wirkung auch auf das milchferment zu untersuchen:

Es wurde mit einer concentration von 1:200000 begonnen und bis zu der von 1:100 gegangen, indem eine 0,05 procentige lösung in wasser benutzt ward, mit der je 1 cc. molke vergiftet wurde. Das resultat war, daß eine concentration von 1:30000 behinderung der gerinnung, eine solche von 1:3000 ihre völlige sistirung bewirkte.

Da die molke auch eiweißsubstanzen neben den bacterien enthielt, so konnten einzelne antiseptica sich mit denselben verbinden und dabei einbuße in ihrer wirkung auf die bacterien erleiden, oder die affinität zu den bacterien konnte



größer fein und es wurden nur die letzteren von dem anti-septicum getroffen.

Um einen einblick in diese vorgänge zu gewinnen, wurden je 5 cc. molke mit 50 %, 75 % und 100 % sterilisirten wassers verdünnt und dann mit sublimat vergiftet. Es wurden vier reihen aufgestellt: In den eprouvetten 1 bis 5 ward die sterilisirte milch 30 cc. mit je 5 cc. molke plus 2,5 cc. wasser (also 50 %), die dann in concentrationen von 1 : 30000 bis 1 : 30 vergiftet wurden, versetzt.

Ebenso wurde mit der milch in den gläsern 1 a bis 5 a verfahren, nur waren die 5 cc. molke mit 3,75 cc. wasser (also 75 %) verdünnt; in den eprouvetten 1 b bis 5 b war die molke vorher mit 5 cc. wasser (also 100 %) versetzt; in den gläsern 1 c bis 5 c war unverdünnte molke zur verwendung gekommen und ebenso wie die anderen vergiftet worden. Die üblichen controllgläser wurden hinzugefügt. Die concentrationen waren folgende: 1 : 30000, 1 : 3000, 1 : 300, 1 : 60 und 1 : 30; bei den beiden letzten verhältnissen bildete sich ein weißer flockiger niederschlag, der in der molke mit 50 % wasser am voluminösesten war. Bei der beobachtung der eprouvetten im brutofen ergab sich, daß die gerinnung der milch am frühesten im glase 1 also bei 50 % wassergehalt der molke eintrat, es gerann hier auch die milch in der eprouvette 2. Bei 75 % verdünnung gerann die milch in keinem glase, bei 100 % in 1 b, bei der nicht mit wasser versetzten molke in 1 c. Darnach hatte das sublimat am energischsten bei 75 % wasserzusatz zur molke gewirkt, am wenigsten bei den von 50 %, bei 100 % ebenso wie bei nicht verdünnter molke. Das controlleglas mit 5 cc. molkezusatz war am zweiten tage mit einem milchcoagulum versehen, 1, 2, 1 b, 1 c zeigten erst am dritten tage gerinnung. 1 : 30000 verhinderte überall die gerinnung, 1 : 3000 hob sie

auf, was mit den früheren versuchen mit sublimat stimmt, aber auch dafür sprechen dürfte, daß die bacterien auch bei stärkeren verdünnungen dem einflusse der antiseptica durchaus unterliegen.

## 7. Kupfervitriol.

Nachdem O. Klotzsch (Untersuchungen über die natur der gährungsercheinungen. Zeitschrift für parasitenkunde. bd. 5.), die antiseptische wirkung des kupfervitriols entdeckt, und Billroth l. c. pag. 208 *coccobacteria septica* bei einer concentration von 1 : 48 ertödtet gefunden, constatirte L. Bucholtz die zahl 1 : 133 für seine bacterien, während Wernicke für hefetod das verhältniß 1 : 600 angab; weit intensivere wirkung konnte aber Wernitz auf ungeformte fermenten nachweisen, indem concentrationen von 1 : 11000 bis 1 : 110 zur vernichtung derselben genügten.

Um das verhalten der milchsäuregährung dem kupfervitriol gegenüber kennen zu lernen, wurde eine 1 procentige lösung desselben hergestellt und ein doppelversuch gemacht, indem ein mal 5 cc. molke, das zweite mal 1 cc. derselben in gleichen concentrationsgraden vergiftet wurden, die zwischen 1 : 11000 und 1 : 100 variierten.

In den eprouvetten mit 5 cc. vergifteter molke als zuthat ward die gerinnung schon bei einer concentration von 1 : 1000 verlangsam, ganz verhindert bei einer von 1 : 250, während in den gläsern mit 1 cc. vergifteter molke versetzt, nur die erste zahl stimmte, die aufhebung der molkewirkung aber erst durch 1 : 100 erfolgte.

## 8. Chlor.

Die intensiv giftige wirkung des chlors auf alle organismen machte es auch zu einem schon lange angewandten und bewährten antisepticum.

L. Bucholtz sah die von ihm gezüchteten bacterien schon bei einer concentration von 1 : 25000 ertödtet, während Werncke darauf aufmerksam machte, daß die hefe sich weit resistenter zeigte, indem sie erst bei einer concentration von 1 : 1060 unwirksam gemacht wurde. Dagegen erwiesen sich die ungeformten fermente bei Wernitz sehr sensibel, da chlor im verhältniß von 1 : 36888 resp. 1 : 7911 vernichtend auf dieselben wirkte.

Auch mit dem chlor wurde ein doppelversuch angestellt, indem 5 cc. und 1 cc. molke in gleicher weise vergiftet wurden, angefangen mit einer concentration von 1 : 223214 geschlossen mit einer solchen von 1 : 744.

Im ersten versuche ward die gerinnung hinausgeschoben durch die concentration 1 : 44642, und trat gar nicht ein bei einer von 1 : 1488, während beim zweiten experiment die minimalwirkung bei einer von 1 : 22321, völlige fästirung aber selbst durch die concentration 1 : 744 nicht erzielt werden konnte. Sie mußte durch einen neuen versuch, bei dem bis zur concentration 1 : 223 gegangen wurde, bestimmt werden, wobei sich die ziffer 1 : 446 ergab.

## 9. Jod.

Bei einem versuche, die bacterien in der milch durch jod zu färben, um sie, wie H. Hoffmann l. c. angab, besser von den milchkugeln unterscheiden zu können, machte ich die beobachtung, daß bei einem zusatze von einem tropfen jodtinctur zu dem zu untersuchenden molkeobjecte die micro-

coccen und diplococcen ihre beweglichkeit beibehielten, ohne sich sichtlich zu verfärben. Bei einem genügend großen tropfen, der nicht so leicht verdunstete, waren die schizomyceten selbst nach 20 minuten noch agil. Diese bemerkung stand im widerpruch zu den resultaten von L. Bucholtz, dessen bacterien, wenn er auch eine gewisse inconstanz der jodwirkung kennen lernte, durch concentrationen von 1 : 5714 getödtet wurden. Die deletäre wirkung des jod auf hefe fand sich nach Werncke bei einem verhältnisse von 1 : 4100, und N. Schwartz constatirte für seine bacterien die zahl 1 : 5000, la Croix 1 : 10020 resp. 1 : 490, während auf die ungeformten fermenten nach Wernitz 1 : 55000 resp. 1 : 1000 vernichtend wirkte.

In meinen versuchen stand mir eine zuvor titrirte lösung von jod in alkohol zu gebot, die 10 procentig war, aus derselben ward eine 1 procentige hergestellt, indem 2,5 cc. derselben mit 22,5 cc. alkohol versetzt wurden. Mit ihr wurden je 5 cc. molke in concentrationen von 1 : 50000 bis 1 : 50 vergiftet, wobei schon eine solche von 1 : 1000 einen hellgelben niederschlag in der molke bewirkte.

Aus der untersuchung der eprouvetten ergab sich, daß jod bei einer concentration von 1 : 10000 die wirkung der molke verzögert und bei der von 1 : 1000 vernichtet hatte, wobei noch zu bemerken erübrigt, daß auch in den eprouvetten mit dem zusatze von 10 cc. lösung gerinnung eingetreten war, die dem Alkohol zuzuschreiben wäre.

## 10. Brom.

Nachdem die haloide chlor und jod zur untersuchung verwandt worden, erschien es angezeigt, auch das brom in den kreis des experimentes zu ziehen, um zu bestimmen,

ob sich sein verhalten hier analog dem gestalten würde, wie in den gleichen versuchen von Werncke und Wernitz, bei denen brom seiner wirkung nach eine stelle zwischen chlor und jod einnahm.

L. Bucholtz constatirte die zahl 1:3333, Werncke 1:1100, Wernitz 1:28490 resp. 1:2840, während bei la Croix und L. Bucholtz das brom nicht unter allen verhältnissen seine mittellstellung unter den drei haloiden bewahrte und die ziffern zwischen 1:13931 und 1:336 schwankten.

Zum vorliegenden versuche wurde bromwasser, das 0,65 % des haloides enthielt, benutzt, indem mit einer concentration von 1:2560 angefangen und die versuchsreihe mit einer verdünnung von 1:15 geschlossen wurde.

Die weiter folgende beobachtung ergab, daß bei einer concentration von 1:961 behinderung der gerinnung erzielt wurde, aufgehoben wurde die molke Wirkung durch 1:348, und darnach würde das brom die letzte stelle in seiner wirkung auf die milchsäuregährung einnehmen im vergleiche mit chlor und jod, und auch allgemein gefäst, dem milch-säureferment gegenüber schwächer sein als den von L. Bucholtz, Werncke, Wernitz und la Croix untersuchten fermenten gegenüber.

## II. Aluminiumacetat.

Nachdem N. Schwartz l. c. entdeckt, daß tabaks-infusbakterien durch essigsäure thonerde bei einer concentration von 1:20000 in ihrer entwicklung gehemmt wurden, wies Kühn nach, daß ein verhältnis von 1:8314 resp. 1:5250 die entwicklung der von ihm gezüchteten bakterien verhindere. Für hefe constatirte Werncke 1:125 und Wernitz fand, daß dieses antisepticum auf ungeformte fermente

in concentrationen von 1 : 50 kaum wirksam war, den meisten derselben gegenüber sich sogar indifferent erwies.

Meine versuche machte ich mit einer aluminiumacetatlösung, die durch wechselzeretzung von schwefelsaurer thonerde und essigsaurem baryt hergestellt war und in 10 cc.  $0,1325 \text{ Al}_2\text{O}_3 = 0,5441$  aluminiumacetat enthielt. Es wurden mit dieser lösung je 5 cc. molke in concentrationsgraden von 1 : 1800 bis 1 : 18 und im überwiegenden verhältnisse des antisepticums vergiftet. Von der concentration 1 : 367 bis zum verhältnisse von 1 und mehr zu 1 molke trübte sie sich milchig und zeigte einen weissen niederschlag.

Es fand sich hierbei die eigenthümliche erscheinung, daß bei stärkerer concentration die gerinnung früher eintrat, als bei der schwächeren, so in der von 1 : 1800 bis 1 : 61 am ersten tage nicht, im glase mit dem zusatz reinen aluminiumacetats und bei concentrationen von 1 : 36 und bei einer concentration, in der das molkequantum mit einer überwiegenden menge des antisepticums versetzt war, wohl. Das antisepticum wirkte hier direct aus casein.

## 12. Borax.

Nachdem Dumas (Comptes rendus. LXXV. 1872, pag. 295) die antiseptische wirkung des borax auf hefe nachgewiesen und Werncke das bestätigen konnte, indem nach ihm eine concentration von 1 : 50 die alkoholgährung verhinderte, führte er (Comptes rendus. LXXX. 1875, pag. 469) daselbe mittel als die milchgerinnung verhindernd an. Nach Kühn ergab sich für eiweißbakterien und solchen aus mutterkorninfus die concentration von 1 : 1025, während die ziffern bei la Croix zwischen 1 : 107 und 1 : 30 schwankten. Für ungeformte fermente gab Wernitz die concentrationen 1 : 3580 bis 1 : 100 an. Für meinen versuch wählte ich

eine 5 procentige lösung des natron biboracicum in wasser und vergiftete damit je 5 cc. molke in concentrationen von 1:10000 bis zum überwiegen des antisepticums.

Bei der concentration 1:100 und mehr bildete sich in der molke ein milchweißer niederschlag.

Bei der revision der eprouvetten zeigte sich, daß eine concentration von 1:100 die molke bereits in ihrer wirkung beeinträchtigt hatte, während völliges ausbleiben der gerinnung erst bei einem verhältnisse von 1:20 erzielt ward. Hiernach nähern sich die zahlen den verhältnissen bei geformten fermenten.

### 13. Schweflige säure.

Nach dem vorgehen von L. Bucholtz, Wernitz und la Croix wurde die schweflige säure als antisepticum auch gegen die milchsäuregährung dem experiment unterzogen, zugleich in berücksichtigung dessen, daß Werncke ihr den vorzug vor der salicylsäure gab, indem schon ein verhältnis von 1:2600 die hefe vernichtete.

Sehr energisch wirkte sie auch nach Wernitz auf ungeformte fermente, 1:21666 bis 1:1317, während L. Bucholtz für feine bacterien die concentration von 1:666,6 zu deren ertödtung brauchte und die ziffern hierfür bei la Croix zwischen 1:12649 und 1:135 schwankten.

Die von mir benutzte wäßrige schweflige säure war vor dem gebrauch titirt und ergab in 100 theilen wasser einen gehalt von 4,032 SO<sub>2</sub>. 5 cc. dieser lösung wurden mit 45 cc. wasser veretzt und eine folche von 0,4032 % SO<sub>2</sub> hergestellt.

Mit dieser lösung wurden zwei reihen, eine von 5 cc. und eine von 1 cc. molke vergiftet, u. z. in concentrationsgraden von 1:31250 bis 1:125.

Beim abschlusse des experimentes mit 5 cc. molke stellte sich heraus, dafs die schweflige säure bei einer concentration von 1 : 853 die wirksamkeit der molke verlangsamte hatte und dafs dieselbe ganz aufgehoben wurde durch ein verhältnifs von 1 : 156.

In dem versuche mit 1 cc. molke hatte eine concentration von 1 : 500 erst verzögerung bewirkt, während eine völlige sistirung der molkewirkung gar nicht eintrat. Dem milchfäureferment gegenüber erwies sich daher dieses antisepticum besonders exceptionel, und nähern sich die zahlen allenfalls denen, die La Croix angab, sind aber um vieles von denen für ungeformte fermente verschieden.

#### 14. Senföl.

Während Werncke das ätherische senföl als ein gutes antifermentativum von sehr energischer wirkung auf die hefe hinstellen konnte, indem die alkoholgährung durch eine concentration von 1 : 900 aufgehoben wurde, erwiesen sich die ungeformten fermente nach Wernitz sehr widerstandsfähig dagegen, indem selbst ein überschufs des antisepticums keinen vollständigen erfolg aufweisen konnte. La Croix constatirte für fleischwasserbakterien als deletäre concentration 1 : 3353 resp. 1 : 28.

In den folgenden versuchen wandte ich eine 0,25 procentige lösung des ätherischen senföls in alkohol an, mit der eine doppelreihe von eprouvetten inficirt wurde, indem erst 5 cc. und dann 1 cc. molke in concentrationen von 1 : 20000 bis 1 : 666,6 vergiftet wurden.

In der reihe mit 5 cc. vergifteter molke als zusatz trat bei einer concentration von 1 : 2000 behinderung der molke-



wirkung ein, aufgehoben ward sie erst durch eine von 1 : 250, die mit einer 0,5 procentigen lösung erzielt war.

In den versuchen mit 1 cc. molke genügte erst ein verhältniß von 1 : 1000 zur verzögerung der gerinnung, bei einer concentration von 1 : 222 mit einer 0,5 procentigen lösung erzielt, wurde die gerinnung ganz sistirt. Das milchsäureferment erscheint darnach widerstandsfähiger als die hefe dem senfölg gegenüber und zeigt mit den ungeformten fermenten keine ähnlichkeit.

### 15. Eukalyptusöl.

L. Bucholtz hatte für dasselbe feststellen können, daß eine concentration von 1 : 666 die bacterien in feiner nährlösung tödte; für hefetod fand Wernke das verhältniß von 1 : 300 genügend, während die ungeformten fermenten nach Wernitz erst beim überschusse oder in gesättigten lösungen in ihrer wirkung abgeschwächt wurden. Bei la Croix sind die ziffern 1 : 205 resp. 1 : 14 als deletäre verzeichnet.

Um die experimente mit eukalyptusöl einzuleiten, wurde dasselbe in alkohol gelöst u. z. zu 0,1 %; die concentrationsgrade in der vergifteten molke schwankten zwischen 1 : 10000 und 1 : 83.

Bei der unterfuchung der eprouvetten konnte ich feststellen, daß eine concentration von 1 : 2000 die gerinnung durch molke verzögert hatte, durch 1 : 400 blieb sie ganz aus. Auch hier zeigte sich das milchferment resistenter als die bacterien der Bucholtz'schen nährflüssigkeit, aber weniger widerstandsfähig als die fleischwasserbacterien; mit den ungeformten fermenten bei Wernitz zeigten sich keine analogien.

## 16. Terpentinwasser.

Kingzett (Pharm. journ. and transact. 1876, Nr. 326) führte das terpentinwasser als wirkfames antisepticum an, wobei das wasserstoffsuperoxyd und die kampferfäure die wirkfamen bestandtheile fein sollten. Auch Quevenne (Ueber die hefe- und die weingährung. Journal für practische chemie v. Erdmann. Bd. 14) und Petit (Comptes rendus. LXXV. 1872) fanden das terpentinöl wirkfam und folgten ihnen in ihren unterfuchungen Werncke und Wernitz, wobei letzterer die emulsinwirkung erst bei einer concentration von 1:2 aufgehoben sah, während die hefe durch ein verhältniß von 1:6 unwirkfam wurde und N. Schwartz die zahl 1:20 für tabaksinfusbacterien angab.

Das zum versuche bestimmte terpentinwasser war hergestellt, indem französisches terpentinöl mehrere wochen mit wasser dem luftzutritte ausgesetzt und häufig umgeschüttelt war.

Je 5 cc. molke wurden in concentrationen von 1:50 bis zum überwiegen des antisepticums vergiftet, und es erwies sich später, daß eine verdünnung von 1:6 auf die molke nachtheilig gewirkt hatte; wirkungslos geworden war sie bei einem verhältniße von 1:1,8 analog dem verhalten des emulsins bei Wernitz.

## 17. Chlorkalk.

Der chlorkalk, den laien als desinfektionsmittel schon seit langer zeit bekannt, hat auch als antisepticum vielfachen versuchen gedient: So konnte Wernitz dessen intensive wirkung auf ungeformte fermente nachweisen und fand für dieselben die concentrationsgrade von 1:36713 bis 1:4950, Werncke eliminirte die hefewirkung durch ein verhältniß

von 1 : 900, und la Croix fand für die fleischbakterien die ziffern 1 : 11135 resp. 1 : 109.

Zu meinen versuchen benutzte ich eine lösung, die beim titrieren folgenden gehalt ergeben hatte:  $\text{Ca Cl}_2 \text{ O}_2$  8,99 %/o.  $\text{Cl}_2\text{O}$  5,4 %/o. Cl 8,87 %/o. 1 cc. hiervon und 99 cc. destillirtes wasser stellten eine 0,0899 procentige lösung unterchlorigsauren kalkes dar, die in concentrationen von 1 : 62500 bis 1 : 62 auf molke einwirkte, von der je 5 cc. vergiftet wurden.

Beim schlusse der untersuchung zeigte es sich, dass der chlorkalk weder die von Werncke noch die von Wernitz und la Croix gefundenen concentrationen in feiner wirkung auf das milchsäureferment erreichte, da verzögerung der gährung erst bei einer verdünnung von 1 : 7000, völlige stillung bei der von 1 : 55 festgestellt werden konnte.

### 18. Blausäure.

Da sich aus den untersuchungen Quevenne's (Ueber die hefe und die weingährung. Journal für praktische chemie v. Erdmann. Bd. 14. 1838) ergab, dass die blausäure hefe vollständig unwirksam zu machen im stande sei, während Schaer (Zeitschrift für biolog. Bd. VI. 1870) und Schönbein ibidem Bd. III. 1867, derselben nur eine contactwirkung zuschrieben, indem nach ihrer entfernung die hefe doch wieder in action zu treten im stande sein sollte, haben A. Mayer (Nobbe. Landwirthschaftliche versuchs-stationen. Bd. 16. 1873) und Werncke die versuche mit blausäure wiederholt und beide gefunden, dass die resultate Quevenne's richtige sein. A. Mayer stellte fest, dass beim zusatz von 1 cc. concentrirter blausäure zu 150 cc. 15 procentiger zuckerlösung diese durch hefe nicht in alkoholische gährung versetzt werden konnte, und Werncke gab an, dass 0,03135 grm.

blaufäure 1 grm. presshefe, was eine concentration von 1 : 340 ergibt, vollständig unfähig mache gährungserregend zu wirken.

Auf die bacterien des tabaksinfuses wirkt nach N. Schwartz die blaufäure, deren entwicklung verhindernd bei einem zusatze von 0,1 cc. einer wässrigen lösung mit 5,4 % der säure zu 20 cc. nährflüssigkeit, was nicht 0,02 % HCy, sondern 0,027 % HCy und nicht eine concentration von 1 : 5000 wie l. c. angegeben, sondern eine solche von 1 : 3703,73 . . . . ergibt. Bei einer verdünnung von 1 : 4600 war die blaufäure unwirksam.

Zu meinen versuchen benutzte ich eine frisch bereitete und vorher titrirte wässrige lösung der säure mit 5,86 % HCy. Die molke, je 5 cc., wurde mit dieser lösung in concentrationen von 1 : 85000 bis 1 : 8 vergiftet.

Die blaufäure hatte nach der folgenden untersuchung der eprouvetten bei einer concentration von 1 : 17000 die molkewirkung verzögert, ganz aufgehoben bei der von 1 : 853.

Hier ist zu bemerken, daß sich bei der concentration 1 : 8 am boden des versuchsglases ein kleines gerinnfel gebildet hatte; dieses milchcoagulum vergrößerte sich jedoch nicht bei fortgesetzter beobachtung, auch fanden sich keine schizomyceten im inhalte des glases.

## 19. Benzoëssäure.

Die benzoëssäure, ihrer wirkung nach der salicylsäure verwandt und von Dougall (The medical times and gazette. 1872), später auch von E. v. Meyer und H. Kolbe (Versuche über die gährungshemmende wirkung der salicylsäure und anderer aromatischer säuren. Chemisches centralblatt. 1875. VI.) wurde zur ertödtung der bacterien auch von

L. Bucholtz benutzt, und konnte er constatiren, daß sie bei einer concentration von 1:1000 auf die entwicklung der von ihm gezüchteten bacterien hemmend wirke, absolut deletär wurde sie ihnen bei einer solchen von 1:250. La Croix fand für die fleischbacterien die verhältnisse 1:2877 bis 1:50, und bei Wernitz schwankten die zahlen für ungeformte fermente zwischen 1:2600 und 1:200.

Da sich die benzoësäure in alkohol besser löst als in wasser, die wirkung des ersteren aber möglichst vermieden werden sollte, so ward eine lösung von 1 grm. benzoësäure in 70 cc. wasser und 30 cc. alkohol hergestellt, mit der eine reihe von 5 cc. und eine solche zu 1 cc. molke in concentrationen von 1:2500 bis 1:100 aufgestellt wurde.

Der durch die benzoësäure erzielte effect war, daß bei einer verdünnung von 1:1000 die molkewirkung verzögert ward, ihre völlige sistirung fand sich bei der concentration von 1:125, wobei die gerinnung caeteris paribus in den eprouvetten mit 1 cc. molke zusatz um 24 stunden später erfolgte als in denen mit 5 cc.

## 20. Thymol.

Nachdem schon von Dr. Sulima-Samuillo (cf. Werncke l. c. pag. 46) die milchsäuregährung verhindernde eigenschaft des thymols untersucht und T. Bull (med. rec. XIII. 15.) seine antiseptische wirkung nachgewiesen, vergl. auch Lewin (Virchow's archiv. Bd. 65. 1875) und Peschechonow (О влияніи тимолу. 1873.) sowie Haberkorn (Das verhalten der bacterien gegen antiseptica. Inaugural-dissertation. Dorpat, 1879.), untersuchte auch L. Bucholtz die wirkung des thymol auf die von ihm gezüchteten bacterien und fand, daß sie durch eine concen-

tration von 1 : 2000 resp. 1 : 200 ertödtet wurden; bei Kühn schwankten die ziffern zwischen 1 : 3097 bis 1 : 2000. La Croix gab die zahlen 1 : 3540 resp. 1 : 20. Die hefe sah Werncke bei einer concentration von 1 : 3100 wirkungsunfähig werden und Wernitz beobachtete einen kaum schwächen den einfluß des thymols auf die ungeformten fermente.

Der vorliegende versuch wurde mit einer 5 procentigen lösung von thymol in wasser veranstaltet und gingen die erzielten concentrationsgrade von 1 : 2000 bis 1 : 10 und darüber vom antisepticum.

Das resultat war, daß die gerinnung durch die im verhältnisse von 1 : 500 vergiftete molke verzögert ward und bei einem solchen von 1 : 50 ausblieb, wonach das thymol sich dem milchsäureferment gegenüber analog seiner wirkung auf geformte fermente verhielt.

## 21. Natron benzoicum.

Nach dem vorgange von L. Bucholtz, der das natron benzoicum auf die von ihm gezüchteten bacterien in einer concentration von 1 : 2000 wirksam fand, untersuchte auch Werncke den effect dieses antiseptics auf hefe, sah aber die gährung durch dasselbe erst bei einer concentration von 1 : 55 unterdrückt. Wernitz fand, daß die gerinnung der milch durch lab bei einem zusatze des salzes von 1 : 50 verhindert ward, bei den übrigen von ihm untersuchten fermenten schwankte die fästirungsziffer zwischen 1 : 100 und 1 : 20.

Mein versuch wurde mit einer 0,1 procentigen lösung des benzoësauren natrons in wasser angestellt, indem je 1 cc. molke in concentrationsgraden von 1 : 1000 bis 1 : 100 und mit einer 1 procentigen lösung in solchen von 1 : 100 bis 1 : 10 vergiftet wurde.

Bei revision der eprouvetten zeigte sich eine behinderung der molkeethätigkeit bei einer concentration von 1 : 222, vollständig unterdrückt ward sie erst bei einem verhältnisse von 1 : 10. Das benzoësaure natron erwies sich darnach in seinem verhalten gegen das milchsaureferment ähnlich seiner wirkungsweise den ungeformten fermenten gegenüber.

## 22. Glycerin.

J. Munk (Verhandlungen der physiologischen gesellschaft in Berlin 1877. Nr. 19.) gab an, daß milch mit  $\frac{1}{3}$  glycerin versetzt, bei  $15^{\circ}$  bis  $20^{\circ}$  C. erst nach 8 bis 10 tagen, mit einem zusatze von  $\frac{1}{3}$  bis  $\frac{1}{2}$  glycerin, erst nach 6 bis 7 wochen sauer werde. Es ist diese angabe von interesse, indem sie nicht vereinbar erscheint mit den resultaten, die Al. Schmidt l. c. gewonnen, denn derselbe benutzte gerade das glycerin, um bei der darstellung seines chemischen milchsaurefermentes dasselbe aus dem alkoholniederschlage aus-zuziehen; andererseits hat Alb. Fitz, (Berichte der deutschen chemischen gesellschaft. 1879, pag. 474) eine gährung des glycerinfauren kalkes hervorgerufen, indem er auf denselben ausfaaten aus kuhexcrementen und heuinfus machte, und als erreger dieser gährung micrococcen nachwies; die gährungs-producte waren alkohol und eine flüchtige säure, vielleicht butter-säure, die heuinfusausfaat ergab ebenso alkohol, daneben effig- und bernsteinsäure. Auch F. Neelsen (Studien über die blaue milch. Der medicinischen facultät zu Rostock als habilitationschrift vorgelegt. Breslau 1880.) fand, daß der glycerinauszug aus den bacterien der blauen milch mehrfach filtrirt die keime nicht ertödtete, sondern, daß dieselben durch das filter gingen und die annahme anderer

autoren, es handele sich hier um einen chemischen process, zu verwerfen sei.

Die ungeformten fermente bei Wernitz zeigten sich wenig beeinflusst durch glycerin, erst concentrationen von 1 : 2 und 1 : 3 hatten vollständig aufhebenden effect aufzuweisen.

Das glycerin wurde von mir nicht verdünnt angewandt und vergiftete ich je 5 cc. molke im verhältnisse von 1 : 5 bis hinauf von 1 : 1 und bis zu einem überwiegenden quantum von glycerin. Nachher zeigte sich ein die molkewirkung verzögernder effect bei einer concentration von 1 : 2, aufgehoben ward sie erst durch glycerin in die molke überwiegender menge und zwar bei einem verhältnisse von glycerin 10 und molke 5.

Die mikroskopischen unterfuchungen der milch in den versuchsgläsern, welche sich an die experimente mit vergifteter molke nach deren abschluß anreihete, gaben im allgemeinen ein sehr einheitliches bild, und sollen die ausnahmefälle ihre besondere berücksichtigung finden.

Zunächst ergab die beobachtung, daß überall, wo gerinnung und säuerung durch molkezusatz eingetreten war, die zu anfang beschriebenen doppelsphäroidzellen (diplococci) zu finden waren, u. z. war ihre zahl und agilität um so größer, je geringer der zusatz vom antisepticum gewesen und je früher die milchsäurebildung und caseinausfällung eingetreten war. In dem eigenen producte, ähnlich wie die *torula cerevisii* und der *saccharomycespilz*, finden diese schi-



zomyceten ihren untergang, und ein neues geschlecht bevölkert ihre grabstätte, stab- und fadenbakterien treten auf, und während die doppelgonidien des milchfermentes den säuerungsproceß als leitpflanze bedingen, regen ihre nachfolger, die bakterien in stab- und fadenformen, die käfige fäulniß und verwesung an, die reaktion der milch wird alkalisch.

Befonders deutlich war das charakteristische bild der säurebildung und gerinnung unter massenhafter entwicklung von diplococcen in den eprouvetten, deren molkezusatz mit folgenden antiseptics vergiftet war: Chlorkalk, terpentinwasser, alkohol, chloroform, sublimat, salicylsäure, borax, schweflige säure, senfö, benzoësäure, blausäure, chlor, jod, glycerin, benzoësaures natron, brom, kreosot, thymol. Beim chlor war noch zu beobachten, daß es bei den concentrationen 1 : 1116 und stärkeren bei aufgehobener molkewirkung auch die diplococcen ertödtet hatte, während die faden- und stabbakterien wohl entwickelt waren, ähnliche beobachtungen ließen sich bei der carbolsäure- und eukalyptusvergiftung machen, bei welchem letzterem der nachweis zu liefern war, daß penicillium glaucum keine milchgerinnung bewirke, indem trotz ausgebreiteter entwicklung desselben die milch flüssig geblieben war.

Weitere beachtung verdienen noch die experimente mit den zusätzen von ein mal 5 cc. und ein mal 1 cc. molke unter gleichen concentrationsverhältnissen des antisepticums: Beim kupfervitriol zeigte sich das milchsäurebildende ferment in 1 cc. vergifteter molke weniger resistent als ceteris paribus in 5 cc, dem chlor und der schwefligen säure gegenüber verhielt es sich umgekehrt, ein umstand, der vielleicht darauf zurückzuführen wäre, daß das antisepticum längere oder kürzere zeit auf die molke eingewirkt hatte, da das anstellen einer versuchsreihe immer einige zeit beanspruchte.

In der folgenden tabelle sind der übersicht wegen die zahlen für geformte und ungeformte fermente neben einander gesetzt, wobei die buchstaben am kopfe der colonnen V. und A. verhinderung der entwicklung von bacterien resp. beeinflussung derselben (V) und aufhebung derselben (A) bezeichnen sollen. Die antiseptika sind ihrer wirkung auf das milchsaureferment nach geordnet, mit dem stärksten angefangen.

Haberkorn hat für die antiseptica benzoësaures natron, benzoësaure, kreosot und carbolsäure keine ziffern für ertödtung der bacterien im harn gefunden, was in der rubrik mit — bezeichnet ist.

---

Tabelle zu feite 52

Haber- korn.  Harnbac- terien.	L. Bucholtz.		P. Kühn.		Bakterien aus aufgüssen von				Wernecke, für hefetod.	La Croix. Tabelle IIa, u. II b.		Ungeformte fermente nach Wernitz. Concentrationsgrade für aufhebung der wirkung.								Milchferment in molke.		Antiseptica.	
	V.	A.	V.	A.	V.	A.	V.	A.		V.	A.	Emulsin.	Myrosin.	Diastase.	Invertin.	Ptyalin.	Pepsin.	Pancreatin.	Lab.	V.	A.		
—	—	1: 27777	—	—	—	—	—	—	1: 1060	1: 22768	1: 431	1: 35614	1: 38888	1: 7411	1: 5980	1: 8540	1: 27167	—	—	1: 44642	1: 1488	Chlor.	8
1: 25000	1: 20000	—	—	1: 25250	—	1: 25250	1: 25250	1: 25250	1: 42800	1: 5805	1: 1250	1: 65000	1: 13000	1: 50000	1: 17500	1: 52000	1: 1766	1: 21600	1: 720	1: 30000	1: 3000	Sublimat.	6
—	—	1: 5714	—	—	—	—	—	—	1: 4100	1: 1548	1: 410	1: 5500	1: 24070	1: 4125	1: 1000	1: 4166	1: 7817	—	—	1: 10000	1: 1000	Jod.	9
—	—	—	—	—	—	—	—	—	1: 340	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	1: 1700	1: 853	Blausäure.	18
—	1: 666	—	—	—	—	—	—	—	1: 800	1: 116	—	1: 100	Wirkte nur im überschuss				—	—	—	1: 2000	1: 400	Eukalyptusöl	15
—	—	1: 3333	—	—	—	—	—	—	1: 1100	1: 2550	1: 336	1: 12654	1: 28490	1: 5070	1: 2840	1: 5580	1: 16777	—	1: 31100	1: 961	1: 348	Brom.	10
1: 900	—	—	—	—	—	—	—	—	1: 6300	1: 591	1: 28	Wirkte nur schwächend oder in gesättigter lösung.								1: 2000	1: 250	Senföl	14
—	1: 133	—	—	—	—	—	—	—	1: 600	—	—	1: 11000	1: 8100	1: 6500	—	1: 7500	1: 110	1: 6600	Wirkungs- los bei 1: 200	1: 1000	1: 250	Kupfervitriol.	7
—	1: 932	1: 362	1: 724	1: 616	1: 1000	—	1: 724	1: 616	1: 1000	1: 60	—	1: 7600	1: 2600	1: 5100	1: 166	1: 1250	1: 250	1: 9000	Keine ver- hinder. bei 1: 333	1: 666	1: 200	Salicylsäure.	5
—	—	1: 666	—	—	—	—	—	—	1: 2600	1: 2009	1: 190	1: 21666	1: 20485	1: 8600	1: 1940	1: 8600	1: 1317	—	—	1: 853	1: 156	Schweflige säure.	13
—	1: 1000	1: 250	—	—	—	—	—	—	1: 680	1: 410	1: 121	1: 2100	1: 1100	1: 1025	1: 400	1: 2600	1: 200	1: 2600	Keine ver- hinder. bei 1: 300	1: 853	1: 156	Benzoësäure.	19
—	—	—	—	—	—	—	—	—	1: 900	1: 3720	1: 170	1: 36713	1: 34833	1: 6613	1: 4950	1: 6613	—	—	1: 28400	1: 7000	1: 55	Chlorkalk.	17
—	1: 1000	1: 100	—	—	—	—	—	—	1: 500	—	—	1: 60	Keine aufhebung bei gesättigter lösung				1: 65	—	—	1: 100	1: 50	Kreosot.	3
1: 3000	1: 2000	1: 200	1: 3097	—	—	—	—	—	1: 3100	1: 109	1: 20	1: 100	Abschwächung oder keine wirkung in gesättigter lösung				1: 500	1: 50	Thymol.	20			
—	1: 500	1: 25	1: 205	1: 156	1: 200	1: 200	—	—	1: 150	1: 22	1: 2,66	1: 20	1: 33	1: 30	1: 34	1: 25	1: 50	—	1: 100	1: 200	1: 20	Carbolsäure.	4
—	—	—	1: 58	—	—	—	—	—	1: 50	1: 48	—	1: 100	1: 110	1: 100	1: 3580	1: 100	—	—	1: 1000	1: 100	1: 20	Borax.	12
—	1: 2000	—	—	—	—	—	—	—	0	—	—	1: 100	Abschwäch. 1: 20	1: 100	1: 65	1: 86	—	—	1: 50	1: 222	1: 10	Benzoësäures natron.	21
—	—	—	—	—	—	—	—	—	1: 6	—	—	1: 2	—	—	—	—	—	—	—	1: 6	1: 1,8	Terpentinwasser.	16
—	—	—	—	—	—	—	—	—	1: 200	1: 112	—	Keine wirkung oder abschwächung in				1: 60	gesättigter lösung				1: 10	Chloroform.	2
—	1: 50	1: 4,5	—	—	—	—	—	—	1: 7,5	1: 4,4	—	1: 2,8	1: 3,5	1: 3	1: 10	0	1: 6	1: 3	—	1: 1	Bei überwiegen- dem antisepticum.	Alkohol.	1
—	—	—	—	—	—	—	—	—	1: 5	—	—	1: 3	1: 2	Abschwächung bei 1: 2		Abschwächung bei 1: 3		—	—	1: 2	Glycerin.	22	
—	—	—	1: 5250	—	1: 8314	—	—	—	1: 125	1: 427	1: 64	Abschwä- chung 1: 50	Keine ab- schwächg. 1: 50	Keine wir- kung. 1: 380	Abschwä- chend bei 1: 100 -	Keine wirkung				?	Bei überwiegen- dem antisepticum.	Aluminiumacetat.	11

## SCHLUSSFOLGERUNGEN.

Wenn es auch nicht vollständig beweisend dafür wäre, daß das milchsäureferment organisirt sei, wenn die zahlen für ertödtung der geformten fermente durch antiseptica, wie sie L. Bucholtz, Kühn, Wernke und la Croix gefunden haben, mit denen von mir für die molke Wirkung als fästirend oder völlig aufhebend constatirten stimmten, so bleibt ein vergleich um analogien zu finden immerhin statthaft und dürfte eine stütze für die annahme eines geformten oder ungeformten fermentes bei der milchsäuregährung bieten, da ja, wie früher hervorgehoben, einzelne autoren die antiseptica als differentialdiagnostisches mittel hierfür verwerthen wollen. Schwierig bleibt eine vergleichung immerhin, da es nicht gleichgültig sein darf, welche der z. b. von la Croix gefundenen ziffern bei ihren großen schwankungen dazu herbeigezogen werden.

Da ich mir die milchsäurebildung als resultat der oben beschriebenen schyzomycetenthätigkeit denke, so müßte sie aufhören, wenn die entwicklung neuer gährungserreger verhindert und die darniederlegung der specifischen functionen der bereits in der molke vorhandenen organismen eingetreten ist.

Ein antisepticum konnte darnach die bacterien in der molke entweder so beeinflussen, daß sie selbst nicht mehr milchsäure liefern konnten, aber in ein neues günstiges

medium gebracht, sei es durch dauersporen oder auch selbst, wieder functionsfähig würden, was gleichbedeutend mit einer verhinderung der wirkung wäre, oder sie konnten vollständig vernichtet werden, und die gährung blieb aus. Von diesen gefichtspunkten aus sind in der tabelle die durch la Croix modificirten zahlenangaben von L. Bucholtz und Kühn sowie seine auf tabelle III unter II a und II b angeführten concentrationsgrade von mir zusammengestellt, daneben stehen die ziffern für hefetod von Werncke, endlich die concentrationsverhältnisse, die Wernitz für vernichtung der wirkung der von ihm untersuchten ungeformten fermente fand, und in der letzten rubrik die von mir erbrachten zahlenangaben für das milchäureferment.

Wenn nun auch beim vergleichen der zahlen in der tabelle der satz kaum volle geltung beibehalten dürfte, daß, allgemein gefaßt, antiseptica das beste unterscheidungsmittel für geformte und ungeformte fermente seien, so ist doch hervorzuheben, daß sich für einzelne stoffe große differenzen in ihrer wirksamkeit finden. So wirkten eukalyptusöl, fenöl, thymol, kreosot und chloroform auf die ungeformten fermente fast gar nicht ein, während das milchäureferment ihnen wohl unterlag. Die übrigen von mir untersuchten antiseptica nähern sich ferner mit ihren niedrigen concentrationsziffern für ertödtung des milchäurefermentes durchaus den verhältnissen bei geformten fermenten, während die zahlen bei Wernitz eine sehr geringe widerstandsfähigkeit der nicht organisirten fermente documentiren.

Hiernach wäre man gezwungen, dem milchäureferment entweder eine exceptionelle stellung unter den ungeformten fermenten einzuräumen mit berücksichtigung ihres sonstigen verhaltens gegen antiseptica, oder man neigt der ansicht zu, es handele sich hierbei um ein organisirtes. Um dieser frage-

entscheidung näherzurücken, schloß ich an die oben beschriebenen experimente einige andere, und suchte zunächst unter der prämissen, es handle sich um ein geformtes ferment, nach dem ursprunge desselben, indem es zu entscheiden galt, ob die keime für dasselbe schon in der milchdrüse sich finden oder erst aus der luft in die milch gerathen.

Sechs mit destillirtem wasser gut gereinigte und bei  $100^{\circ}$  C. getrocknete eprouvetten wurden mit einem watterpfropf, durch den eine feine glaseröhre, wie sie zur aufbewahrung von pockenlymphe im gebrauch sind, verschlossen, die nach ausen mündende öffnung derselben umwickelte ich mit carbolwatte und setzte die gläser in der metallkammer eine halbe stunde  $110^{\circ}$  C. bis  $180^{\circ}$  C. aus. Nachdem einer kuh die euter sorgfältig gewaschen waren, wurden die so vorbereiteten eprouvetten direct aus der milchdrüse mit milch bis zu 30 cc. gefüllt, indem unmittelbar unter dem euter der carbolwatterverschluß der glaseröhren abgenommen und diese mit den daranhängenden eprouvetten in die striche der milchdrüse eingeführt wurden. Die milch floss in continuirlichem dünnen strahle in die gläser bis zur marke für 30 cc. dieselben füllend. Darauf wurden die canülen aus dem euter gezogen und aus den watterpfropfen entfernt, die dann etwas fester in den hals der eprouvetten gestopft und an der durchtrittsstelle der glaseröhren zugedreht wurden. Von diesen unter gleichen umständen bei einer temperatur von  $18^{\circ}$  C. bis  $25^{\circ}$  C. aufbewahrten milchproben gerannen zwei am sechsten tage, am siebenten die dritte, am neunten tage die vierte und am zehnten tage die beiden letzten proben. Bei der untersuchung mit dem mikroskop fanden sich nur die charakteristischen in kreisenden bewegungen flottirenden doppel-sphäroide, dagegen keine stabbakterien auch nicht oidium lactis oder andere mycelarten. Eine ganz keimfreie milch

aus der drüse der kuh zu gewinnen, mußte ich zwar von vorneherein als für unausführbar halten, denn nach den unterfuchungen von M. Nencki und P. Giocosa (Giebt es bacterien oder deren keime in den organen gefunder lebender thiere? Journal für practifche chemie. Neue folge. Herausgegeben von H. Kolbe und E. v. Meyer. Bd. 20. pag. 34. u. ff.) enthalten die drüfigen organe des lebenden thieres wohl schizomyceten oder deren keime; ich konnte aber annehmen, daß ihre zahl eine nur beschränkte fein werde, da ja sonst die milch im euter auch gerinnen müßte, was nach erfahrung der landwirthe höchst selten sich ereignet und dann von fiebererscheinungen begleitet zu fein pflegt. Wäre nun ein chemifches in der milch praeexistirendes ferment die urfache der milchfäuregährung, so müßte es doch gleichmäfsig in derfelben vertheilt fein und unter gleichen verhältniffen denselben effect in gleicher zeit haben.

Dem entspricht aber der von mir angestellte versuch nicht, auch stimmt er nicht mit einem ähnlichen experiment, das Hoppe-Seyler (Medicinisch-chemische unterfuchungen aus dem laboratorium für angewandte chemie zu Tübingen. Heft III. 1868, pag. 563) anstellte. Er fand nämlich, daß milch, «die in einer reinen glaströhre in der weife aufgefangen war, fodafs sie gar nicht an die luft kam, dann darin eingeschlossen blieb, ebenso schnell gerann, als die zu gleicher zeit gemolkene milch, die der luft ausgesetzt gewesen und bei derselben temperatur aufbewahrt war.»

Wenn nun die experimente Hoppe-Seylers andere resultate ergaben, und mir die urfachen dafür fremd find, so muß ich mich doch auf meine versuche, die unter allen cautelen angestellt wurden, stützen, wenn ich zur erklärung der in verschiedenen zeiten sich vollziehenden gerinnung der milch unter den oben angeführten umständen ein organifirtes ferment

als deren ursache annehme, dessen keime oder schon ausgebildete organismen in gewiss sehr kleiner und verschiedener zahl schon in der drüse waren und je nachdem früher oder später fäuerung und gerinnung der milch bewirkten,

Dieser versuch lehrt aber auch, daß diese organismen weit verbreitet in der luft sein müssen, denn offen stehende milch gerraun unter den temperaturen von  $18^{\circ}\text{C}$ . bis  $25^{\circ}\text{C}$ . schon am zweiten tage. Da es von interesse sein konnte zu erfahren, wie das milchsäureferment sich dem galvanischen constanten strom gegenüber verhält, experimentirte ich auch nach dieser richtung. Zu dem behufe wurde frische milch unter watterverschluss dem strome einer Scherer'schen batterie auf der hiesigen klinik ausgesetzt, indem an die beiden pole platindrähte angeschraubt und zwischen watte und eprouvettenhals in die milch getaucht wurden. Bei der einwirkung des stromes stieg die milch einen schaumigen kegel bildend einige millimeter an den drähten empor. Zehn milchproben wurden so behandelt in den eprouvetten I bis X, u. z. glas I 2 elemente fünfzehn minuten, II 4 elemente drei minuten, III 4 elemente fünf minuten, IV 4 elemente zehn minuten, V 6 elemente zwanzig minuten, VI 6 elemente zehn minuten, VII 6 elemente fünfzehn minuten, VIII 6 elemente fünf minuten, IX 8 elemente fünf minuten, X 10 elemente fünf minuten. Nachdem diese gläser in den brutofen gestellt worden, war am anderen tage nur die milch in der eprouvette V flüssig geblieben, in allen übrigen war gerinnung eingetreten und reagirte die milch sauer. Bei der mikroskopischen untersuchung fanden sich in allen gläsern mit geronnenem inhalte die milchsäurebakterien, wie ich sie mehrfach beschrieben. In dem glase mit flüssigem inhalt sah ich nur feine körnchen zwischen den milchkugeln, die auch unter immersion 9 Hartnack nur molecularbewegung zeigten.



Hieran schloß ich nun versuche mit dialysirter milch, die ich nach der von Al. Schmidt l. c. pag. 3 u. ff. angegebenen methode gewonnen hatte und welche sich bei der Trommer'schen zuckerprobe völlig frei von milchzucker fand. Zwei proben dieser milch zu je 30 cc. wurden genommen, und, nachdem zu der einen milchzucker gethan worden, die andere ohne zusatz in den brutofen offen hingestellt. Nach dreien tagen war in beiden eprouvetten gerinnung eingetreten. Der inhalt des glases mit milchzuckerzusatze roch nach faurer milch und reagirte sauer; unter dem mikroskop sah ich diplococcen der milchsäuregährung in lebhafter motion, vereinzelt auch stäbe und torulaketten. Das glas mit reiner dialysirter milch zeigte auch gerinnung des caseins, hatte den geruch von stinkendem käse angenommen, reagirte alkalisch und zeigte unter dem mikroskop zwar auch diplococcen, aber in überwiegender zahl stäbe und lange fadenbakterien (vielleicht die käsebakterien Cohns). Hierdurch wäre die gerinnung der milch durch milchsäurebildung erwiesen, daneben scheint auch das casein durch bakterienthätigkeit direct gefällt werden zu können.

Dafs die umwandlung des milchzuckers in milchsäure durch den einfluss von spaltpilzen bewirkt werde, illustriert der folgende versuch. Durch mehrfaches auflösen in wasser und fällen mit alkohol gereinigter milchzucker wurde in destillirtem wasser gelöst und in den brutofen gestellt, wo die lösung mehrere tage säurefrei blieb, aber nach einem zusatz von gekochter gelatinelösung sauer wurde. Auch hier fanden sich zahlreiche bakterien, aber auch verschiedene mycelien, die ich nicht zu bestimmen vermochte; eine probe nicht mit gelatine versetzten milchzuckers blieb zu gleicher zeit in der lösung neutral; es mußten die in der zuckerlösung befindlichen keime erst durch die sterilisirte gelatinelösung ihr nähr-

material erhalten haben, um sich entwickeln und in function treten zu können.

Es erübrigte nun noch, das milchsäureferment auf seine diffusionsfähigkeit zu prüfen. Bei Al. Schmidt l. c. pag. 6 u. ff. heisst es: « . . . Der annahme, das dieses ferment (das milchsäurebildende) den bisherigen erfahrungen zuwider, diffusionsfähig fein und durch siedhitze nicht vollkommen zerstört werden sollte, steht vielleicht als wahrscheinlicher die vermuthung gegenüber, das es sich um gewisse organische, diffusionsfähige, durch siedhitze nicht zu zerstörende stoffe handelt, aus welchen sich das ferment, nachdem der vorhandene vorrath desselben durch kochen zerstört worden, von neuem wieder entwickelt; so würde sich das vorkommen des fermentes in dem diffusat überhaupt, so wie auch das langsamere sauerwerden der in der wärme eingedampften resp. der gekochten diffusate erklären. Möglicherweise ist aber auch das sauerwerden der milchdiffusate überhaupt nicht durch die gegenwart eines chemischen, nicht organisirten, milchsäurebildenden fermentes bedingt, sondern nur durch das auftreten der von Pasteur entdeckten, die milchsäuregährung bewirkenden niederen organismen.»

Zu dem einschlägigen versuche füllte ich drei sterilisirte eprouvetten mit 30 cc. frischer milch, verband sie darauf mit pergamentpapier und setzte sie in der metallkammer während einer stunde einer temperatur von  $100^{\circ}\text{C}$ . bis  $110^{\circ}\text{C}$ . aus. Das der verschluss ein guter gewesen, ergab sich daraus, das nachdem die eprouvetten mit dem pergamentpapier nach unten gehalten, die milch wieder zu fieden begann. Zwei derselben tauchte ich darauf mit den verbundenen öffnungen in frische milch, das dritte diente als controllglas. Am tage darauf war bei zimmertemperatur die milch ausserhalb der eprouvetten sauer und geronnen, die in den gläsern jedoch

noch flüssig. Nach dem eröffnen der einen eprouvette zeigte die milch in derselben neutrale reaction, jedenfalls keine saure, in einem tropfen fand ich unter dem mikroskop nichts, was für bacterien gehalten werden konnte.

Das zweite versuchsglas wies am vierten tage gerinnung feines inhaltes auf; es wurde geöffnet, die milch reagirte sauer und ein tropfen derselben enthielt massenhaft diplococcen, die mithin durch das pergamentpapier geschlüpft sein mußten. Dieses resultat würde für die von Al. Schmidt in seinem schlusssatze vorhin angeführte möglichkeit sprechen, und bliebe auch hier wie in den versuchen von Kühne (Untersuchungen aus dem physiologischen institute der universität Heidelberg. Bd. I, pag. 291 u. ff.) der satz unbeanstandet, daß «enzyme» nicht diffundiren, ein name, den Kühne für diejenigen fermenten eingeführt wissen will, die als «nicht organisierte», «ungeformte», «chemische» und «organische» sonst bezeichnet wurden.

Die milch in der dritten als controllglas benutzten eprouvette war nach drei wochen noch völlig flüssig und nicht sauer geworden, auch fanden sich keine bacterien in derselben.

Hiermit haben die von mir angestellten versuche ihren abschluss erreicht und käme es nunmehr darauf an, die von Al. Schmidt gefundenen resultate mit meinen untersuchungen in einklang zu bringen.

Nachdem O. Hammersten (Bull. soc. chim. [2] 22.) aus dem lab das milchferment dargestellt hatte, welches durch kochhitze, alkohol und alkalien zerstört werden konnte, und nachdem ihm ferner gelungen, in der magenmembran ein ferment zu entdecken, das milchzucker in milchsäure verwandeln konnte, hat auch Al. Schmidt in seiner schon von

mir citirten arbeit nach einem chemischen ferment für die spontane fäuerung des milchzuckers in der milch gefucht.

Darnach scheint dieses ferment sich aus durch siedhitze nicht zu zerstörenden stoffen nur bilden zu können, was ich mit meinen versuchen nicht in einklang zu bringen vermag, indem die unter watterverchlufs durch siedhitze sterilisirte milch auch nach monaten nicht fauer wurde. Für den vorgang aber, das eine wäsrige milchzuckerlösung, die fünf bis acht tage warm aufbewahrt fauer ward, solches aber nach zusatz von dialysirter milch schon nach wenigen stunden eintrat, ist die erklärung darin zu sehen, das, wie ich gezeigt habe, die dialysirte milch ein für bacterien sehr guter nährboden ist, und das diese organismen, sobald ihnen der milchzucker geboten wird, denselben in milchsäure überführen, die dann ihrerseits die caseinausfällung herbeiführt, es spielt hier demnach die dialysirte milch dieselbe rolle wie die gelatinelösung, die ich in meinem experimente mit gereinigtem und gelöstem milchzucker anwandte. Ebenso können die wäsrigen fermentlösungen und schon die glycerinextracte desselben reichlich mit den entwickelten spaltpilzen oder deren keimen versehen gewesen sein, denn beide gehen auch durch filterpapier und findet hierbei daselbe statt, was Neelsen (Studien über die blaue milch. Der medicinischen facultät zu Rostock als habilitationschrift vorgelegt. Breslau, 1880, pag. 45) beobachten konnte, das bei dem blau werden der milch ein von anderen autoren angenommenes chemisches ferment ausgeschloffen werden kann, indem in den glycerinauszügen gonidien der specifischen bacterien suspendirt waren. Und auf die frage endlich, ob die ursachen für den spontan eintretenden fäuerungsproceß identisch seien, d. h. ob auch beim fauer werden des diffusates der milch ein von anfang an in ihr enthaltenes ferment das wirksame sei, mag daselbe

nun als solches hineindiffundirt sein, oder mag es sich aus irgend welchem material entwickelt haben, oder ob es sich hier um gährungen durch organisirte fermente handle, würde die antwort lauten, es seien hier entweder die ausgebildeten specifisch wirkfamen schizomyceten des milchfäurefermentes oder deren keime das wirkfame agnes, respective ein stoff, den sie liefern. Letzteres suchte ich nun durch weitere experimente zu ermitteln, doch schien mir gegen diese annahme zu sprechen, daß nicht aller milchzucker in milchfäure umgewandelt wird, was man von einem chemischen ferment erwarten könnte, und gelang es mir auf dem wege des versuches diese frage nur annähernd zu lösen: ich filtrirte molke durch watte und acht bis zwölf filterpapiere und setzte von derselben zu einer portion milch von 30 cc., die zuvor sterilisirt war, ebensoviele als nicht filtrirte molke zu anderen 30 cc. gleichfalls sterilisirte milch; *ceteris paribus* gerann dann die letztere probe früher als die erste. Diesen versuch halte ich zwar nicht für beweisend und muß diese seite der frage noch offen lassen die möglichkeit zugebend, daß hier ein chemisches ferment ähnlich dem invertin der hefe von den bacterien geliefert werden könne, doch bleibt ein wichtiger einwand dagegen, den die weiter angeführten unterfuchungen von Bert liefern, und ich neige der ansicht zu, daß ein solches chemisches ferment von den bacterien nicht erzeugt werde, sondern daß dieselben den milchzucker direct in milchfäure verwandeln.

Neben diesen anhaltspuncten für den beweis, daß das milchfäureferment organisirt sei, können noch die experimente anderer angeführt werden, so die beobachtung Pasteurs, daß die bacterien bei der milchgerinnung sauerstoff verbrauchen und kohlenfäure produciren. A. Müller (Die landwirthschaftlichen versuchstationen von Nobbe. 1867, pag. 37)

fand, daß  $\text{CO}^2$  das fauerwerden der milch beeinträchtigt, während Richet (Berichte der deutschen chemischen gesellschaft. Bd. 12, pag. 1213.) beobachtete, daß sauerstoff die gährung der milch begünstigt, welche bei  $44^\circ$  mit der temperatur zunimmt, bei  $55-62^\circ$  constant bleibt. Diese beobachtungen sprechen für ein organisirtes ferment, da die genannten gasen auf die wirkung eines enzym's keinen einfluss haben dürften. Ebenso findet meine ansicht unterstützung und vollgültigen beweis durch die versuche von P. Bert (Comptes rendus LXXX. 1875, pag. 1579.) in denen er den nachweis liefert, daß durch comprimirt luft die organismen bei gährungsercheinungen getödtet und diese dabei aufgehoben werden, während die chemischen fermente, diastase, pepsin et cetr. durch luftdruck nicht alterirt werden. Die gleiche entdeckung schrieb sich W. Nägeli zu und J. Voigt und A. O. Schulze nahmen ein patent darauf, milch durch zwei bis vier athmosphären druck vor dem fauerwerden zu bewahren. (Jahresberichte über die leistungen der chemischen technologie für das jahr 1879. Herausgegeben von Rudolf v. Wagner. Leipzig. 1880, pag. 942.)

Wenn sich hieran eine untersuchung über die genese und metamorphose der von mir beobachteten schizomyceten hätte schliessen müssen, so würde ich auf das gebiet der botanik zu weit geführt worden sein, ich will daher nur einzelne beobachtungen hier wiedergeben, die vielleicht von anderer seite weitere verwerthung finden könnten. Ich muß nach meinen beobachtungen zunächst die selbständigkeit der von mir als milchsäurebakterien beschriebenen spaltpilze hervorheben im gegensatze zu Johanna Lüders (Botanische zeitung. 1866, Nr. 5 u. 6.) Hallier l. c. Polotebnow (Ueber den ursprung und die vermehrung von bakterien. Wiesner. Mikroskopische untersuchungen. 1872.) u. a. die

aus penicillium und mycelien bacterien entstehen lassen wollen. Ich habe für die schizomyceten der milchsäuregährung das nicht feststellen können, sondern ich sah sie wohl nach längerer beobachtung zerfallen, und es fanden sich dann hellglänzende commaformige gebilde, dauer sporen, in der flüssigkeit, wo sich aber mucorinen ansiedelten, waren deren keime schon vorher sichtbar gewesen, und andererseits sah ich penicillium floriren, ohne dafs sich nachher diplococcen zeigten; confer den versuch mit eukalyptusöl.

Darnach schliesse ich mich mit bezug auf das milch-säureferment den ansichten Manasseins (Mikroskopische untersuchungen. Herausgegeben von Wiesner. 1872, pag. 155 u. ff.) Löw's (Zur entwicklungsgeschichte von penicillium, Pringheim's jahrbücher für wissenschaftliche botanik. Bd. VII, pag. 478) und Nägeli's an. Manassein erzielte reinculturen von penicillium und sah nie bacterien sich aus demselben entwickeln, sondern nur wieder die mutterpflanze aus den sporen entstehen. Löw züchtete bacterien und sah auch nur wieder diese unter dem deckglase des mikroskopischen objectes sich entwickeln. Nägeli (Die niederen pilze und ihre beziehungen zu den infectionskrankheiten und gesundheitspflege. pag. 17 u. ff.) gelang es reinculturen von schimmelpilzen vier jahre lang ohne bacterienentwicklung zu züchten, andererseits sah er nie aus spaltpilzen schimmel oder sprosspilze auswachsen. Pag. 23 l. c. behauptet er, dafs die nämlichen spaltpilze nie mal in der milch lebend milch-säure bilden, dann auf fleisch transplantirt fäulniß bewirken könnten, was ich durch mehrfache experimente bestätigen konnte; auch für die bacterien aus harn gilt das. Pag. 31 sagt er: «Wenn man in zuckerhaltige nährlösungen, «welche neutral reagiren, keime der niedern pilzgruppen, (spalt-pilze, sprosspilze und schimmelpilze) hineinbringt, so vermehren

«sich nur die spaltpilze unter milchsäurebildung, mit  $\frac{1}{2}$  procent weinsäure vermehren sich in ihr sprosspilze mit weingeistiger gährung, bei 4 bis 5 % weinsäure bildet sich nur schimmel.»

Derselbe kampf um das dasein, wie ich ihn bei der milchsäuregährung sah und Dr. Emil Hanfen bei den von ihm untersuchten bacterien- und pilzarten beobachtete (Mittheilungen aus dem Carlsberger laboratorium. Beiträge zur kenntniss der organismen, die sich in bier und würze vorfinden und darin leben können. 1880) zeigte sich auch hier.

Dafür, daß nach den untersuchungen von L. Cienkowski (Memoires de l'academie imperiale des sciences de Saint Petersburg. VII. série, tome XXV. Zur morphologie der bacterien.) die spaltpilze schwärmgonidien von leptothrix und mycothrix seien oder einer crenothrixart angehören, habe ich keine strikten beweise erbringen können, doch wäre ich geneigt, die zu anfang beschriebenen wie von einem schlauche umgebenen torulaketten für die fäden einer farblosen alge zu halten, aus denen die schwärmgonidien frei werden.

Wie schwierig es ist, aus dem mikroskopischen bilde allein Schlüsse über die art der schizomyceten zu ziehen, geht aus einem vergleiche der von mir beschriebenen spaltpilze der milchsäuregährung mit den von Neelsen l. c. am schlusse seiner abhandlung auf der tafel in figur 3, 4 und 9 dargestellten bacterien der blauen milch hervor, es sind fast dieselben formen, wie ich sie bei der milchsäuregährung sah, schwärmgonidien, doch mit ganz anderen functionen und wie aus den späteren entwickelungsformen ersichtlich einer anderen mutterpflanze angehörig als das milchferment.

Indem ich nun die resultate meiner untersuchungen zusammenfasse, gelange ich zu folgenden schlusssätzen:



Das milchäureferment ist im allgemeinen weniger widerstandsfähig gegen die antiseptica als die fleischwasser- und andere bacterien, differirt aber in seinem verhalten bedeutend von den ungeformten fermenten.

Das ferment der spontanen milchäuregährung ist ein organisirtes.

Die spaltpilze (schizomyceten) welche sie bedingen sind anscheinend kernlose zellen von doppelsphäroider gestalt, 0,003 bis 0,004 mm. groß, in der mitte eingeschnürt, und bewegen sich um die einschnürungsstelle als angelpunct rotirend in kreisbahnen. Sie produciren kohlenäure und verbrauchen sauerstoff und entwickeln sich am besten bei 30° bis 35° C.

Durch antiseptica, siedhitze, durch den electricchen strom und durch luftdruck werden die schizomyceten der milchäuregährung getödtet.

Sie gehen durch pergamentpapier bei der dialyse ebenso durch filterpapier.

Indem ich mit meinen unterfuchungen die frage nach der natur des milchäurefermentes zum abschluß gebracht zu haben glaube, hoffe ich, daß dessen genese und morphologie bei näherer kenntnißnahme der schizomycetenflora weiterer forschung von kompetenter feite unterzogen werden wird.



## THESEN.

---

1. Die antiseptica sind für einzelne schizomyceten das einzige mittel, um sie zu unterscheiden.
  2. Verschiedene temperaturgrade mit rücksicht auf sterilisirung sind ein gutes mittel, um reinculturen von schizomycetenspecies zu erzielen.
  3. Die Anwendung von kälte beim reduciren incarcerirter hernien ist zu verwerfen.
  4. Bei gonytis fungosa auf dyscrasischer grundlage ist die amputation indicirt.
  5. Bei der ernährung der fäuglinge mit kuhmilch sind die kühe, deren milch dazu benutzt wird, auf ihren gesundheitszustand zu prüfen und lactoscopie zu üben.
  6. Alle arzneistoffe wirken nur palliativ.
  7. Der alkohol stiftet als genufsmittel mehr schaden als nutzen.
-